

Modellsubstanzen für den Phytochrom-Chromophor
Synthese und Untersuchung der photochemischen
und photophysikalischen Eigenschaften

Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Naturwissenschaften
der Abteilung für Chemie
an der Ruhr-Universität Bochum

von
Dagmar Schneider
aus Bochum

Bochum 1988



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Modellsubstanzen für den Phytochrom-Chromophor
Synthese und Untersuchung der photochemischen
und photophysikalischen Eigenschaften

Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Naturwissenschaften
der Abteilung für Chemie
an der Ruhr-Universität Bochum

von
Dagmar Schneider
aus Bochum

Bochum 1988

Dissertation eingereicht am
Tag der mündlichen Prüfung
Referent
Koreferent

24.02.1988
29.04.1988
Prof. Dr. Dr. G. Snatzke
Prof. Dr. K. Schaffner

Gedruckt im

Max-Planck-Institut für Strahlenchemie
D-4330 Mülheim a.d. Ruhr

8/1988

ISSN 0932-5131

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 1982 bis April 1987 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. K. Schaffner und Frau Prof. Dr. S. E. Braslavsky im Max-Planck-Institut für Strahlenchemie in Mülheim a. d. Ruhr angefertigt.

Das Referat wurde freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. Dr. G. Snatzke, Abteilung für Chemie der Ruhr-Universität Bochum, übernommen.

Herrn Prof. Dr. K. Schaffner danke ich herzlich für die großzügige Unterstützung dieser Arbeit, seine immerwährende Bereitschaft zur Diskussion und für die Übernahme des Koreferates.

Für die Übernahme des Referates in Bochum möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Dr. G. Snatzke bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. S. E. Braslavsky für die Unterstützung bei dieser Arbeit, die intensive Betreuung und zahlreiche Diskussionen.

Meinen Eltern

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

I.	Einleitung	1
1.	Phytochrom	1
2.	Modellsubstanzen für den Phytochrom-Chromophor, Problemstellung	4
II.	Biliverdin als Modellsubstanz	9
1.	Versuche zur Darstellung von Biliverdinsäureanhydrid	9
2.	Alternativen zur Anhydridherstellung	13
3.	Begründung für das Scheitern der Cyclisierungsversuche	14
4.	Zusammenfassung der Ergebnisse	18
III.	Phycocyanobilin und seine Derivate als Modellsubstanzen	19
1.	Synthesen der Modellverbindungen	20
2.	Photochemie	25
2.1.	Phycocyanobilindimethylester	25
2.1.1.	Kinetik der Photoreaktion	25
2.1.2.	Identifizierung der Photoprodukte	45
2.1.3.	Diskussion der Ergebnisse, Vorschlag eines Reaktionsmechanismus	71
2.2.	(3' R)-3,3' -Dihydro-3' -methoxy-phycocyanobilindimethylester	76
3.	Photophysik	79
3.1.	Fluoreszenz-Spektroskopie	79
3.1.1.	Phycocyanobilindimethylester	79
3.1.2.	(3' S)-3,3' -Dihydro-3' -thioethoxy-phycocyanobilindimethylester	83
3.1.3.	Photodimer	84
3.2.	Optoakustik-Spektroskopie (OAS)	86
3.2.1.	Phycocyanobilindimethylester	87
3.2.2.	(3' S)-3,3' -Dihydro-3' -thioethoxy-phycocyanobilindimethylester	91



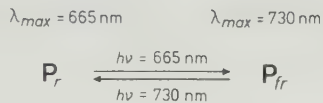
3.3.	Phycocyanobilindimethylester als Sensibilisator und Löscher von molekularem Singulett-Sauerstoff	92
3.3.1.	Abschätzung der Triplett-Quantenausbeute	92
3.3.2.	Messung der Singulett-Sauerstoff-Lumineszenz	100
3.3.3.	Messung der Singulett-Sauerstoff-Löschkonstanten von Phycocyanobilindimethylester	103
3.4.	Diskussion der Ergebnisse	105
4.	Vergleich mit den Ergebnissen von Biliverdin-IX α -dimethylester	107
IV.	Zusammenfassung	109
V.	Experimenteller Teil	113
1.	Geräte- und Arbeitsbedingungen	114
2.	Beschreibung der Versuche	118
VI.	Literaturverzeichnis	153
VII.	Abkürzungsverzeichnis	159

I. Einleitung

I.1. Phytochrom

In Pflanzen werden viele physiologische Prozesse, wie z.B. Photosynthese und Photomorphogenese, durch Licht gesteuert. Im Gegensatz zur Photosynthese wird bei der Photomorphogenese das Licht nicht als Energiequelle, sondern als Steuerungssignal für verschiedene Reaktionen benutzt¹.

Der für die Photomorphogenese zuständige Photorezeptor in höheren Pflanzen ist das Chromoprotein Phytochrom². Es liegt in einer im roten Spektral-Bereich ($< 700 \text{ nm}$) absorbierenden, physiologisch inaktiven Form (sog. rote Form, P_r) und in einer im dunkelroten Bereich ($> 700 \text{ nm}$) absorbierenden, physiologisch aktiven Form (sog. dunkelrote Form, P_{fr}) vor, die sich photoreversibel ineinander überführen lassen, wobei die Lage des Gleichgewichts von der eingestrahnten Wellenlänge abhängig ist^{1,3}:



Der einzige im sichtbaren Bereich absorbierende Chromophor des Phytochrom (deshalb wird meistens von "dem Phytochrom-Chromophor" gesprochen) ist das sog. Phytychromobilin. Dieses lineare, konjugierte Tetrapyrrolsystem ist nur⁴ über eine Seitenkette von Ring

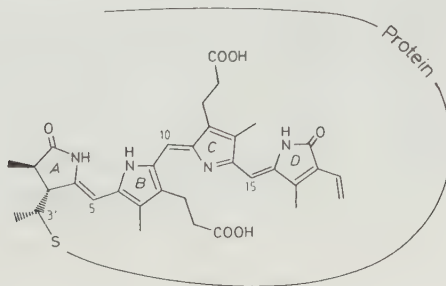


Abb. I.1: Struktur von Phytochrom in der P_r -Form⁵.

A (C-3') kovalent an das Protein gebunden⁶. Da Phytochrom meistens in der P_r Form

(Abb. I.1) aus Pflanzen extrahiert wird⁷, ist diese auch die am besten charakterisierte. Das Molekulargewicht schwankt in Abhängigkeit von der Pflanzenart⁸ zwischen 120 und 127 kDa und liegt beim Hafer-Phytochrom bei 124 kDa. Durch Sequenzanalyse des Hafer-Phytochrom-Gens konnte dieses bestätigt werden, wobei auch angenommen wurde, daß die Sequenz der 1128 Aminosäuren des Hafer-Phytochroms mit der seines Gens übereinstimmt⁴. Das Pigment liegt "in vitro" in dimerer Form (≈ 248 kDa) vor (ob dieses auch in der Natur der Fall ist, ist nicht bekannt) und läßt sich als "natives" Phytochrom (124 kDa)⁹, sowie in seinen partiell abgebauten "großen" (114/118 kDa) und "kleinen" (60 kDa)¹⁰ Formen isolieren.

Schon früher konnte die Sequenz eines Chromopeptids mit 11 Aminosäuren ermittelt werden¹¹, das durch proteolytischen Abbau von 60 kDa-Phytochrom erhalten wurde^{11,12}. Diese Sequenz wurde im Vergleich mit dem entsprechenden synthetischen Peptid durch ¹H-NMR-Untersuchungen bestätigt, wobei auch den Chiralitätszentren C(2), C(3) und C(3') des Phytochrom-Chromophors die relative Konfiguration R,R,R bzw. S,S,S zugeordnet werden konnte¹². In Abbildung I.2 ist die Substanz willkürlich mit der R,R,R-Stereochemie dargestellt.

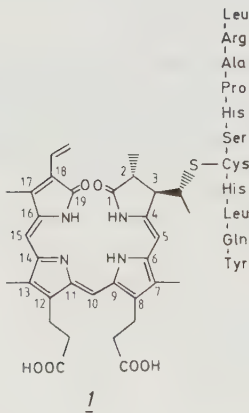


Abb. I.2:

Durch proteolytischen Abbau von Phytochrom entstandenes Chromopeptid.

Während man früher schon vermutet hatte, daß der Unterschied zwischen P_r und P_{fr} in chemisch verschiedenen Chromophoren liegt¹³, zeigten neuere Untersuchungen durch vergleichende NMR-Messungen von P_r - und P_{fr} -Chromopeptiden mit den entsprechenden

Chromopeptiden von Phycocyanin, daß P_r einen Z,Z,Z-Bilatrien-Chromophor besitzt, während der von P_{fr} eine 15-E-Konfiguration aufweist^{14,15}. Aus Tieftemperatur-¹⁶ und Blitz-Photolyse-Untersuchungen¹⁷ bei Raumtemperatur von nativem Phytochrom wurde geschlossen, daß zu Anfang der über mehrere Zwischenstufen verlaufenden $P_r \rightarrow P_{fr}$ -Phototransformation (vgl. Abb. 1.3) kein Protonentransfer stattfindet, da kein H/D-Isotopen-Effekt beobachtet wurde. Statt dessen wurde die Z→E-Isomerisierung der 15,16-Doppelbindung als erster Schritt in Betracht gezogen¹⁶, denn die Untersuchungen des $P_r \rightleftharpoons P_{fr}$ -Gleichgewichts^{1,5,13,18-21} ergaben, daß sich bei der Umwandlung von P_r in P_{fr} (bzw. umgekehrt) an die photochemische Reaktion noch mehrere Dunkelreaktionen anschließen, die Wechselwirkungen des Chromophors mit dem Protein beinhalten^{17,22} (Protonentransfer) sowie (oder nur) Konformationsänderungen des Chromophors¹⁶ und des Proteins²³.

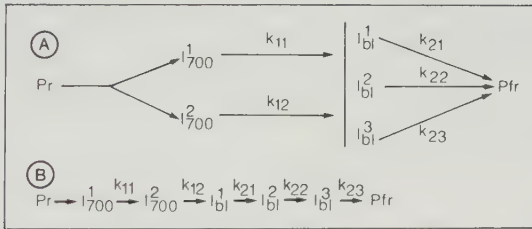


Abb. 1.3: Zwischenstufen der Phytochrom-Transformation $P_r \rightarrow P_{fr}$ nach Lit. 20a. Bei den kinetischen Untersuchungen kann nicht zwischen einem parallelen (A) und einem sequentiellen (B) Mechanismus unterschieden werden.

Es ist zunächst wichtig, Informationen über die photophysikalischen und photochemischen Eigenschaften des Phytochrom-Chromophors zu gewinnen.

Für diese Untersuchungen muß man auf Modellsubstanzen (Kap. 1.2) für den Chromophor ausweichen, da man ihn nicht in ausreichender Menge aus Phytochrom isolieren kann, denn dieses kommt nur höchstens 10^{-6} molar in Pflanzen vor⁷ und besitzt zudem nur einen Chromophor pro Molekül⁴ bei einem Molekulargewicht von 124 kDa.

1.2. Modellsubstanzen für den Phytochrom-Chromophor

Problemstellung

Als Modellsubstanzen wurden verschiedene, lineare Tetrapyrrole benutzt, die in größeren Mengen (2-500 mg) zur Verfügung standen. Die Untersuchung der Photophysik und Photochemie dieser Modellsubstanzen²⁴⁻³⁵ führte nicht nur zu zahlreichen Informationen über Phytochrom⁵, sondern entwickelte sich auch zu einem eigenständigen^{18a,36,37} Forschungsgebiet. Sie kommen nicht nur in Pflanzen (als Chromophor von Photorezeptoren) vor, sondern auch in anderen Lebewesen, z.B. als Pigment in Schmetterlingen (z.B. Biliverdin-IX_Y) oder als Abbauprodukte des Blutfarbstoffes in der Gallenflüssigkeit (z.B. Bilirubin, Biliverdin). Diese Bilatriene werden auch als "Gallenfarbstoffe" bezeichnet.

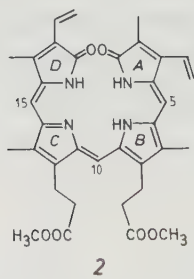


Abb. I.4:

Modellsubstanz für den Phytochrom-Chromophor:
Biliverdin-IX α -dimethylester.

Als Modellsubstanz für den Phytochrom-Chromophor (Abb. I.2) eignet sich gut Biliverdin-IX α -dimethylester (BVE (2), Abb. I.4), da sich die beiden Chromophore nur im Sättigungsgrad des Ringes A voneinander unterscheiden.

Die spektroskopischen Untersuchungen (UV-VIS-^{25,27}, Fluoreszenz-^{25,27,31,32}, SCD- (Lösungsmittelinduzierter Circular dichroismus)^{26,31}, NMR-^{26,29} Spektroskopie) zeigten, daß BVE in Lösung als Gemisch von zwei verschiedenen Spezies vorliegt. Der einen wurde eine helicale (Z-syn, Z-syn, Z-syn für die Bindungen um C(5), C(10) und C(15)), bewegliche Form und der anderen eine gestreckte, starre Form zugeordnet, deren Population sich in Abhängigkeit von Temperatur³⁸ und Lösungsmittel ändert, wobei jedoch meistens³⁹ die helicale überwiegt. Die Untersuchungen^{24,35,40} wiesen darauf hin, daß sich die möglichen Rotationen zur Bildung einer gestreckten Form (vgl. Abb. I.5) auf den Bereich von C(10) beschränken, wobei aufgrund der N(22)/N(23)-Tautomerie eine ganze "Familie"

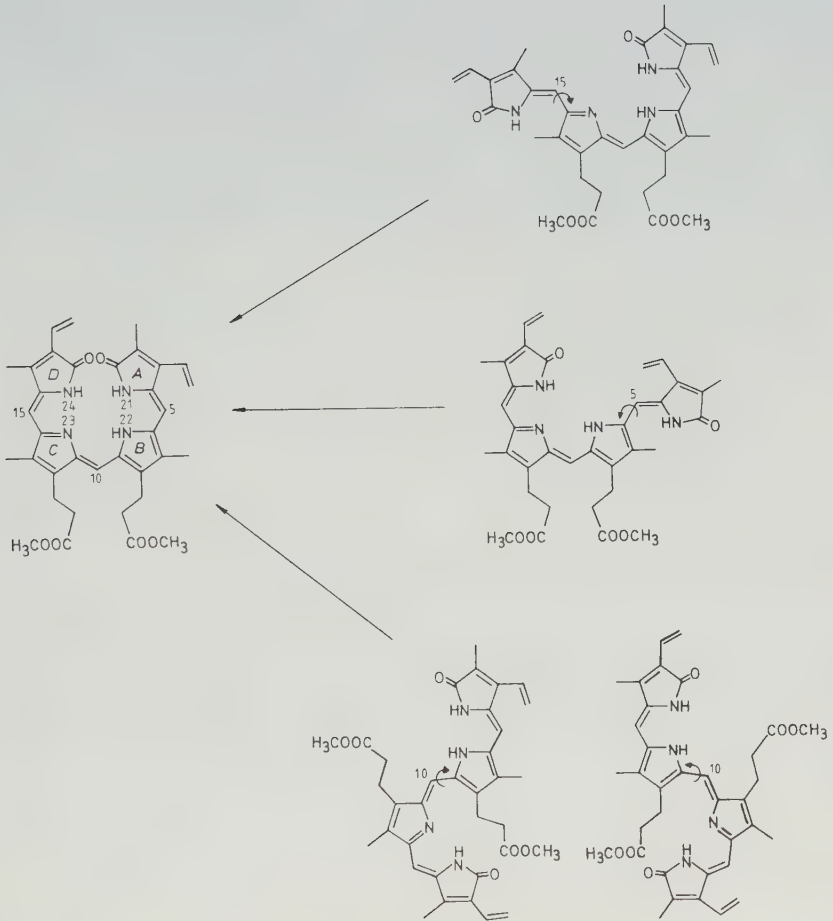


Abb. I.5: Mögliche Konformere von BVE und Beispiele von Konformationsänderungen. Die dargestellte Tautomerie-Situation N(22)-H, N(23) ist willkürlich, die Bindungen zwischen Ring B und C sind gleichlang⁴¹.

Dunkelrote Form (helical)

$$\lambda^{\text{em}} = 730 \text{ nm}$$

überwiegt:

1. bei Raumtemperatur
2. in polaren Lösungsmitteln

Rote Formen (gestreckt)

$$\lambda^{\text{em}} = 660 \text{ nm}$$

Konzentration wird erhöht:

1. bei höherer Temperatur
2. in unpolaren Lösungsmitteln

von Strukturen entsteht³⁶, die als "gestreckte Form" bezeichnet wird. Da diese Schlußfolgerungen durch den Vergleich mit anderen Modellsubstanzen erhalten wurden, wäre ein direkter Beweis wichtig. Diesen könnte man erhalten durch die Untersuchung eines Biliverdin-Derivats, bei dem eine Drehung um diese Bindung nicht möglich ist.

Eine dafür geeignete Substanz wäre das Biliverdinsäureanhydrid (BVAn (3), Abb. I.6), dessen Synthese und Untersuchung der photochemischen und photophysikalischen Eigenschaften ein Ziel dieser Arbeit war.

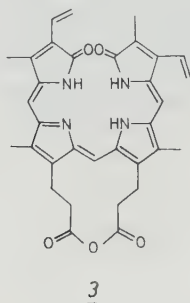


Abb. I.6:
Erstes Syntheseziel:
Darstellung von Biliverdinsäureanhydrid 3.

Es konnte jedoch weder ein Anhydrid noch eine andere, um C(10) starre Verbindung hergestellt werden, wobei als Grund für das Mißlingen die räumliche Orientierung und mögliche Fixierung der Säure- bzw. der Ester-Gruppen des Moleküls in Lösung diskutiert wurde.

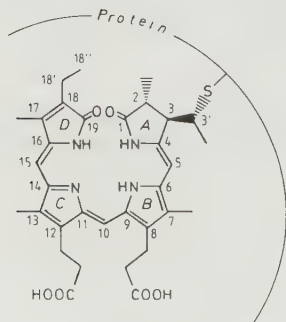


Abb. I.7:
C-Phycocyanin;
zur R.R.R-Stereochemie der Chiralitätszentren
C(2), C(3) und C(3') siehe Lit. 42 und 43.

C-Phycocyanin (Abb. I.7), ein Antennen-Pigment der Blaualgen, besitzt einen Bilatrien-

Chromophor (Phycocyanobilin), der sich nur durch das Fehlen der 18',18"-Doppelbindung vom Phytochrom-Chromophor (vgl. Abb. I.2) unterscheidet.

Deshalb ist Phycocyanobilindimethylester (PCBE (4), Abb. I.8) eine bessere Modellsubstanzen für den Phytochrom-Chromophor als BVE.

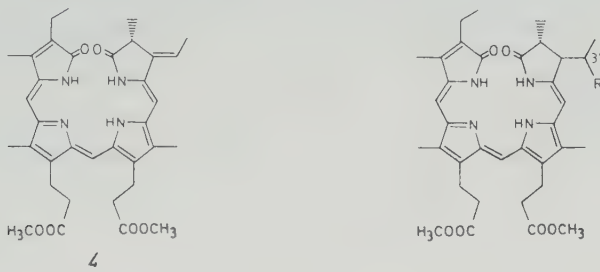


Abb. I.8: Phycocyanobilindimethylester 4 und sein 3'-Derivat als Modellsubstanzen für den Phytochrom-Chromophor.

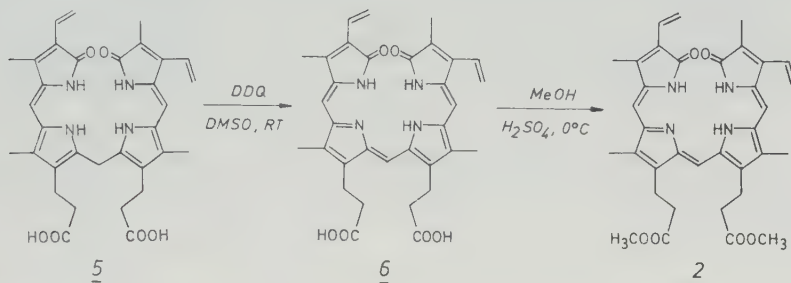
Im Rahmen dieser Arbeit sollte nun die Photochemie und Photophysik dieses Modells untersucht und die Ergebnisse mit denen von BVE verglichen werden. Zudem sollte noch eine Verbesserung des Modells möglich sein durch Addition einer Alkylgruppe oder eines Peptids an die 3,3'-Doppelbindung, dessen Synthese und Untersuchung seiner photochemischen und photophysikalischen Eigenschaften ebenfalls Thema dieser Arbeit war.

Die Untersuchungen zeigten, daß PCBE (wie BVE) in Lösung als Gemisch von zwei verschiedenen Spezies vorliegt und Aggregate bildet (Kap. III.3.1). Die Belichtung der Substanz in sauerstoff-haltiger Lösung führte neben strahlungslosen (Kap. III.3.2) und strahlenden (Kap. III.3.1) Desaktivierungsprozessen auch zu einer Photooxidation, deren Produkte charakterisiert wurden (Kap. III.2.1.2). Es konnte gezeigt werden, daß die Reaktion über molekularen Singulett-Sauerstoff verlief (Kap. III.2.1.1), wobei PCBE als dessen Sensibilisator und auch Löscher diente (Kap. III.3.3).

Bei der Belichtung eines 3'-Derivates wurde ein dem PCBE ähnliches Verhalten beobachtet (Kap. III.2.2 und III.3).

II. Biliverdin als Modells substanz

Die Ausgangssubstanzen für die Synthesen wurden in teils geringfügiger Abwandlung der Literaturvorschriften durch Reinigung von käuflicher Bilirubinsäure-IX α (BRA, 5)^{44a}, deren Oxidation zu Biliverdinsäure-IX α (BVA, 6)^{44b} und anschließende Veresterung zu BVE (2)²⁶ hergestellt (Schema II.1).



Schema II.1

II.1. Versuche zur Darstellung von Biliverdinsäureanhydrid

Wie in Kap. I.2 bereits beschrieben, sollte das Anhydrid (BVAn, 3) von BVA hergestellt werden, um daran die photophysikalischen Eigenschaften eines um die 9,10- bzw. 10,11-Bindung "starren" Modells zu untersuchen. Dafür muß BVA in der helicalen Konformation vorliegen, weil sich nur dort die beiden Säuregruppen auf derselben Seite des Moleküls befinden; die gestreckte Konformation wäre somit die für die Synthese ungeeignete Form.

Bei der Wahl der Reaktionsbedingungen für die Anhydridsynthese mußte man folgende Eigenschaften von BVA berücksichtigen:

1. die Temperaturempfindlichkeit, die das Arbeiten oberhalb von ca. 90 °C unmöglich macht,
2. die schlechte Löslichkeit, auch in polaren Lösungsmitteln und
3. die Lage des Konformationsgleichgewichts in verschiedenen Lösungsmitteln, wobei angenommen wurde, daß wie bei BVE (vgl. Abb. I.5) die gestreckte Form in unpolaren

der Substanz zurückzuführen. Bei der Reaktionsmischung handelte es sich immer um eine Suspension, da sich sonst (10-100fache Menge Lösungsmittel) selbst mit sehr gut getrocknetem Lösungsmittel mehr Wasser- als BVA-Moleküle im System (Lösung + ungelöstes BVA) befunden hätten.

Beim Umsatz mit Essigsäureanhydrid⁴⁶ oder Acetylchlorid erhielt man analog das gemischte Monoanhydrid 9 und das Dianhydrid 10 (Schema II.2).

Als weitere Möglichkeit zur Anhydridherstellung boten sich die zur Darstellung von Benzoesäureanhydrid beschriebenen Reaktionsbedingungen⁴⁷ an. Die Behandlung von BVA mit p-Toluolsulfonsäurechlorid (p-TsCl) in trockenem Pyridin bei RT führte aber zu keinem Umsatz.

Es gibt drei Möglichkeiten, warum das Anhydrid nicht synthetisiert werden konnte:

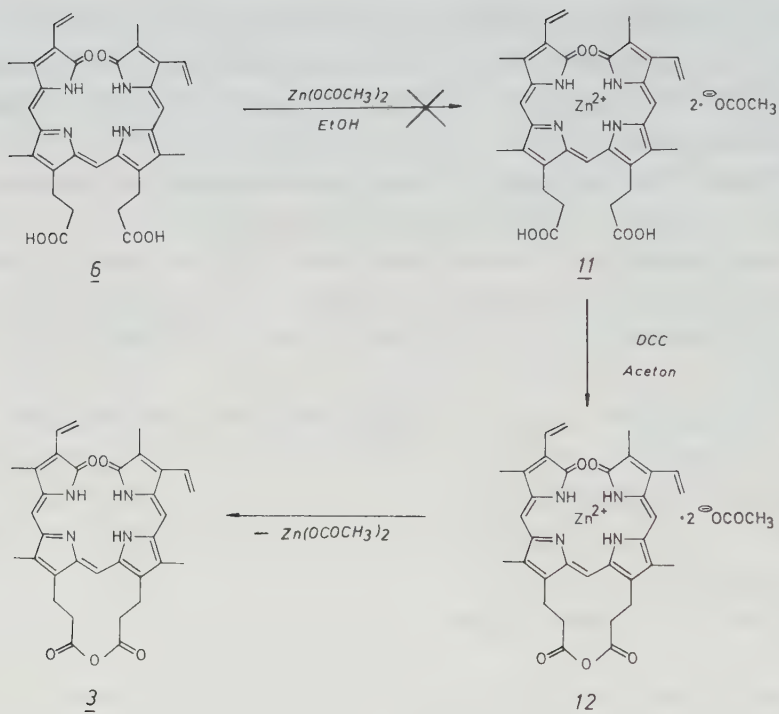
1. Das Anhydrid ist so instabil, daß es durch geringste Spuren Wasser sofort gespalten bzw. erst gar nicht gebildet wird,
2. BVA ist nicht sauer, also reaktiv genug, um das Zwischenprodukt zum Anhydrid abreagieren zu lassen, oder
3. BVA liegt in der "falschen" (gestreckten) Konformation (vgl. S. 9) vor.

Eine Erhöhung der BVA-Konzentration, die den unter Punkt 1 beschriebenen Prozeß zurückdrängen könnte, war wegen der schlechten Löslichkeit (vgl. S. 9) nicht möglich.

Ausgehend von der zweiten Annahme sollte man durch Zugabe eines Säure-Katalysators eine Kondensation des Monoesters zum gewünschten Produkt erreichen können. Deshalb wurde das Zwischenprodukt 7 mit Nafion-H bzw. Dowex, einem Ionenaustauscher-Harz in der H^+ -Form umgesetzt, wobei aber lediglich eine Adsorption der Substanz an dem Trägermaterial beobachtet wurde.

Da auch dieses nicht zum Anhydrid führte, wurde versucht, BVA in die "richtige" (vgl. Punkt 3), also helicale Konformation zu überführen. Die Fluoreszenz-Anregungs-Spektren (Kap. II.3) zeigten, daß die gestreckte Form von BVA ebenso wie die von BVE^{31,38} ihr Absorptionsmaximum bei $\lambda = 600$ nm hat. Mit der Annahme, daß diese sich bei Bestrahlung in die helicale Form umwandelt, wurde BVA belichtet ($\lambda = 589$ nm), wobei aber keine Reaktion beobachtet wurde, auch nicht beim Zusatz von Säure Katalysatoren.

Eine Möglichkeit, die helicale Form des Moleküls während der Reaktion zu "erzwingen", ist der Einsatz des Zinkacetat-Komplexes 11 (vgl. Schema II.3). Die zur Herstellung von



Schema II.3

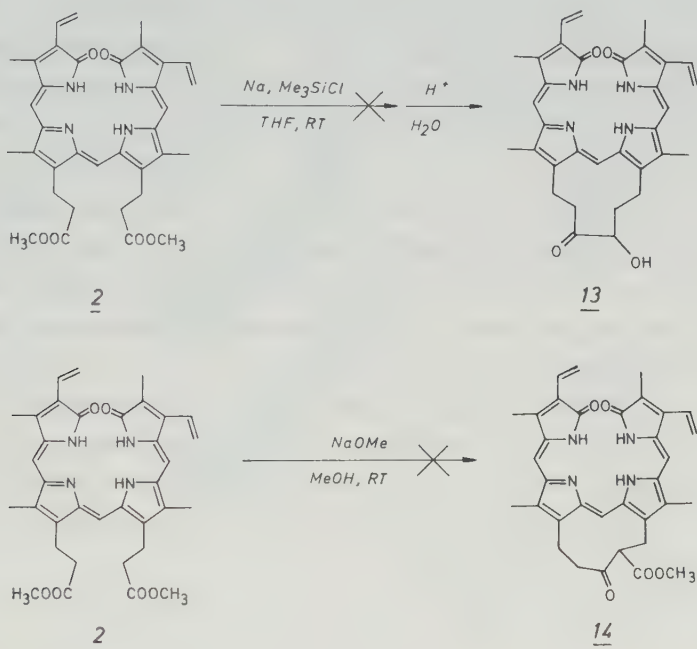
11 analog zur Zinkkomplexbildung von BVE³² durchgeführte Reaktion lieferte einen Feststoff, dessen IR-Spektrum ($\tilde{\nu} = 1575, 1400 \text{ cm}^{-1}$) sowohl auf die Bildung von 11 (Zn-Bilatrien-Komplex: $\tilde{\nu} = 1590\text{-}1535 \text{ cm}^{-1} \triangleq$ Gerüstschwingung⁴⁸) als auch auf die Bildung des Zinksalzes der Säure (Carboxylat-Ionen: $\tilde{\nu} = 1610\text{-}1550, 1420\text{-}1300 \text{ cm}^{-1} \triangleq \text{C=O}^{49a}$) schließen läßt. Da die Substanz in keinem Lösungsmittel löslich war und Zink sich nur sehr schwer mit Hilfe der Elementaranalyse bestimmen läßt, konnte sie nicht als Zinkkomplex von BVA identifiziert werden.

Deshalb wurde die Anhydridsynthese mit Essigsäureanhydrid bzw. mit DCC noch einmal in Anwesenheit von Zinkacetat (in situ-Herstellung des Komplexes) durchgeführt, was aber auch nicht zum gewünschten Produkt führte.

Da es nicht möglich war, die beiden Säuregruppen von BVA zu kondensieren (Begründung siehe Kap. II.3), wurde nun der Ester als Ausgangsmaterial gewählt (Kap. II.2).

II.2. Alternativen zur Anhydridherstellung

Da man für die photophysikalischen Untersuchungen nur eine um die 9,10- bzw. 10,11-Bindung starre Verbindung benötigt (Kap. 1.2) und nicht unbedingt ein Anhydrid, wurden auch Cyclisierungsversuche ausgehend von BVE (2) durchgeführt.



Schema II.4:

Weder die Acyloin- noch die Dieckmann-Kondensation, die das α -Hydroxyketon (11-Ring) 13 bzw. den β -Ketoester (10-Ring) 14 liefern sollten (Schema II.4), führten aber zu dem gewünschten cyclischen Produkt. Man isolierte entweder das Ausgangsmaterial oder den Biliverdinsäuremonomethylester (BVME, 16). Da man auch hier annahm, daß BVE in der für die Reaktion "falschen" Konformation vorlag, wurde der Zinkacetat-Komplex von BVE (15) hergestellt³² und analog behandelt. Bei RT wurde keine Reaktion beobachtet, bei höherer Temperatur isolierte man unter Dieckmann-Kondensations-Bedingungen wiederum nur BVME, und unter Acyloin-Kondensations-Bedingungen nur Zersetzungsprodukte.

II.3. Begründung für das Scheitern der Cyclisierungsversuche

Das Mißlingen der Cyclisierungsversuche ausgehend von BVE (2) kann man damit begründen, daß BVE in Konzentrationen $\geq 10^{-5}$ M in dimerer Form vorliegt, was durch Fluoreszenzmessungen bewiesen wurde³⁸. Diese Dimerenbildung könnte eine Fixierung der Estergruppen bewirken, so daß der erwünschte Ringschluß nicht möglich ist.

Die Vermutung lag nahe, daß dieses auch für BVA (6) gilt, wobei angenommen wurde, daß die Dimerenbildung in diesem Fall auf intermolekularen Wasserstoff-Brückenbindungen zwischen Säuregruppen und Stickstoff-Funktionen beruht, was eine Fixierung der Säuregruppen zur Folge hat (vgl. Abb. II.3), so daß sie nicht miteinander reagieren können.

Zur Klärung dieser Frage konnten weder die NMR- noch die IR-Spektroskopie benutzt werden, da selbst die höchste, für die Monomeren-Untersuchung mögliche Konzentration (10^{-5} M) für diese Methoden zu niedrig war, trotz Erhöhung der Meßempfindlichkeit durch z.B. zusätzliche Einstrahlung in das nicht deuterierte Lösungsmittelsignal beim NMR oder Verwendung eines Fourier-Transform-IR-Gerätes.

Deshalb sollte mit Hilfe von konzentrationsabhängigen Fluoreszenz-Messungen - analog zu denen von BVE^{36,38} - die Dimerenbildung untersucht werden. Es wurden Anregungs- und Emissionsspektren von BVA (6) in Chloroform gemessen, wobei der Konzentrationsbereich (10^{-6} - 10^{-5} M) durch die Geräteempfindlichkeit (untere Grenze) und Löslichkeit der Substanz (obere Grenze) vorgegeben war.

Eine $4.6 \cdot 10^{-6}$ molare BVA-Lösung zeigte eine Wellenlängenabhängigkeit der Anregungs- und Emissionsspektren analog zu BVE^{31,38} (Abb. II.1).

Mit der Anregungswellenlänge $\lambda^{\text{exc}} = 600$ nm erhält man ein breites Fluoreszenz-Emissionsspektrum, dessen Maximum bei $\lambda_{\text{max}} = 698$ nm liegt und zusätzlich noch zwei Schultern bei 658 und 767 nm aufweist (Abb. II.1.b). Regt man diese Lösung mit $\lambda^{\text{exc}} = 660$ nm (Abb. II.1.c) an, so findet man das Maximum einer schmalen Emissionsbande bei $\lambda_{\text{max}} = 767$ nm und eine kleine Schulter bei 698 nm. Die Detektion einer evtl. auch hier vorhandenen Bande bzw. Schulter bei 658 nm ist aus meßtechnischen Gründen ($\lambda^{\text{exc}}(660 \text{ nm}) > \lambda^{\text{em}}(658 \text{ nm})$) nicht möglich.

In Analogie zu den Ergebnissen von BVE in Methanol^{31,36,38} wurde die Emission bei 658 nm der gestreckten Form (BVE: 660 nm), die bei 698 nm der helical gekrümmten (710 nm) und die Emission bei 767 nm der dimeren Form (735 nm) zugeordnet.

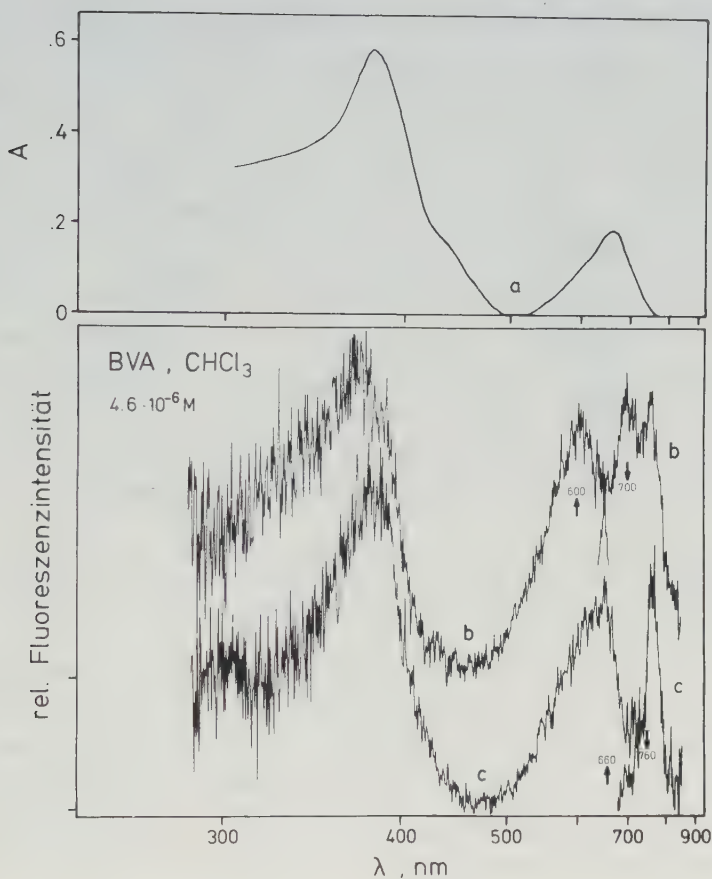


Abb. II.1: Absorptions-Spektrum (a) und Fluoreszenz-Spektren (b,c) von BVA ($4.6 \cdot 10^{-6} \text{ M}$) in CHCl_3 . Anregungsspektren mit $\lambda^{\text{em}} = 700 \text{ nm}$ (b) und 760 nm (c), Emissionsspektren mit $\lambda^{\text{exc}} = 600 \text{ nm}$ (b) und 660 nm (c).

Mit der Wellenlänge $\lambda^{\text{exc}} = 600 \text{ nm}$ wird also bevorzugt die helical gekrümmte Spezies angeregt, deren Anregungsspektrum ($\lambda_{\text{max}} = 372, 606 \text{ nm}$) man mit $\lambda^{\text{em}} = 700 \text{ nm}$ erhält (Abb. II.1.b), wobei auch eine Schulter des gestreckten Monomers bei $\lambda = 640 \text{ nm}$ sichtbar ist, dessen Anregungsspektrum ($\lambda_{\text{max}} = 390, 640 \text{ nm}$) man mit $\lambda^{\text{em}} = 760 \text{ nm}$ erhält (Abb. II.1.c).

Der Vergleich der konzentrationsabhängigen Fluoreszenzmessungen (Abb. II.2.a-f) zeigt bei den Emissionsspektren mit $\lambda^{\text{exc}} = 600 \text{ nm}$ (a-c) folgenden Unterschied:

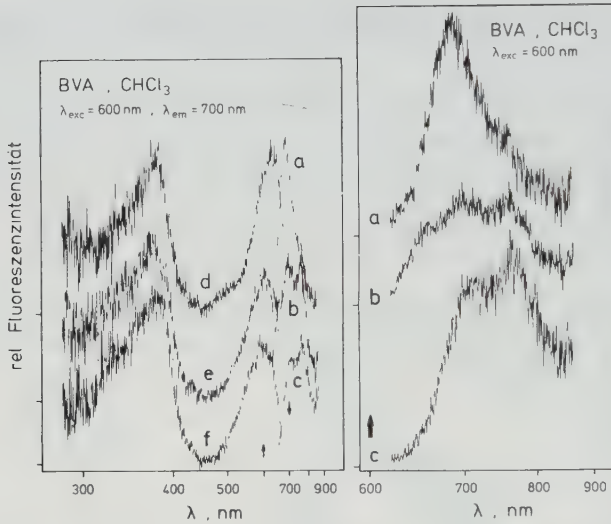


Abb. II.2: Konzentrationsabhängigkeit der Fluoreszenz-Emissions- ($\lambda_{\text{exc}} = 600 \text{ nm}$, a-c) und Anregungs-Spektren ($\lambda_{\text{em}} = 700 \text{ nm}$, d-f) von BVA in CHCl_3 , $1.3 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ (a, d), $4.6 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ (b, e) und $1.4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ (c, f). Die rechte Abbildung zeigt die Emissionsspektren gespreizt.

Während bei der $4.6 \cdot 10^{-6}$ molaren Lösung (Abb. II.2.b) drei sich überlagernde Banden sichtbar sind ($658 \text{ nm} \hat{=}$ gestrecktes Monomer, $698 \text{ nm} \hat{=}$ gekrümmte Form, $767 \text{ nm} \hat{=}$ gestrecktes Dimer), erscheinen bei der konzentrierteren Lösung ($1.4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, Abb. II.2.c) nur noch die Banden der gekrümmten Form und des Dimeren, wobei sich das Intensitätsverhältnis der beiden zugunsten des Dimeren verschoben hat. Die Bande des gestreckten Monomeren ist nicht mehr vorhanden.

In der verdünnten Lösung ($1.3 \cdot 10^{-6} \text{ M}$, Abb. II.2.a) verschiebt sich dieses Intensitätsverhältnis zugunsten der helical gekrümmten Form, so daß die Bande des Dimeren nur noch als Schulter zu sehen ist. Die Bande des gestreckten Monomeren liegt hier offensichtlich unter der Emissionsbande der helicalen Form. Dieses zeigt sich deutlicher in der Abbildung (Abb. II.2, linkes Bild), in der sowohl das Emissions- als auch das Anregungsspektrum in Abhängigkeit von der Konzentration dargestellt sind. Bei Abnahme der Konzentration ist eine deutlich größer werdende Überlappung der beiden Spektren im Wellenlängenbereich $640\text{--}680 \text{ nm}$, dem Bereich des gestreckten Monomeren, zu erkennen.

Wie man aus diesen Messungen sehen kann, liegt BVA schon in 10^{-5} molarer Lösung hauptsächlich als Dimer vor, d.h. es dimerisiert schon bei niedrigerer Konzentration als

BVE³⁶ (10^{-4} M). Dieser Unterschied wird auf intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Säuregruppen und Stickstoff-Funktionen, bzw. zwischen zwei verschiedenen Säuregruppen zurückgeführt.

Daraus kann man schließen, daß im Konzentrationsbereich des präparativen Arbeitens (hier 10^{-3} bis 10^{-2} M) BVA (und auch BVE) vollständig in dimerer Form vorliegt, wobei wie schon erwähnt die Säuregruppen möglicherweise stark fixiert sind. Für die beschriebenen Syntheseveruche wurde daraus die folgende Hypothese als Erklärung für das Mißlingen entwickelt:

Mit der Vorstellung, daß das Dimer aus zwei "sandwich"-artig zusammengelagerten Molekülen besteht, kann man davon ausgehen, daß die beiden Carboxylgruppen eines Moleküls unterschiedlich reaktiv sind, und zwar die "äußere" mehr als die "innere" (vgl. Abb. II.3). Deshalb entsteht bei den Versuchen, ein Anhydrid herzustellen zwar das

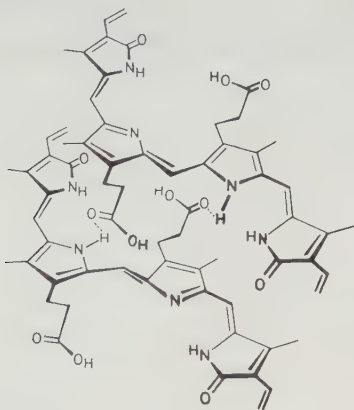


Abb. II.3: Vermutete Struktur der Biliverdin-Dimeren am Beispiel von BVA in der gestreckten Konformation.

Zwischenprodukt der Reaktion (Monoester bzw. Monoanhydrid mit Reagenz, Kap. II.1) vermutlich an den "äußeren" Säuregruppen, aber diese können dann nicht ins "Innere" des Dimers gelangen, um dort mit der anderen Carboxylgruppe zu reagieren. Analog dazu kann auch das Scheitern der BVE-Cyclisierung erklärt werden (Kap. II.2).

II.4. Zusammenfassung der Ergebnisse

Aus den in Kap I.2 erläuterten Gründen sollte eine um die C(10)-Bindung starre Modellsubstanz von Biliverdin hergestellt werden. Bei den Darstellungsversuchen konnte man aber, wenn überhaupt eine Reaktion stattfand, nur die jeweiligen Zwischenprodukte und die Diester bzw. die gemischten Anhydride (BVA + Reagenz) isolieren. Es wurde die Hypothese aufgestellt, daß die bei höherer Konzentration ($\geq 10^{-6}$ M bzw. 10^{-5} M) auftretende Aggregation der Substanz die gewünschte Produktbildung verhinderte. Diese Aggregation konnte durch Fluoreszenz-Messungen an unterschiedlich konzentrierten Lösungen nachgewiesen werden, wobei schon bei 10^{-6} molaren BVA-Lösungen Dimere beobachtet wurden, während dieses bei BVE erst in 10^{-5} molaren Lösungen der Fall war. Bei höheren Konzentrationen ($\geq 10^{-4}$ M) liegen also sowohl BVA als auch BVE hauptsächlich als Dimere vor. Eine Durchführung der Reaktion in verdünnter Lösung, in der überwiegend Monomere vorliegen, war nicht möglich, da dort die in jedem Lösungsmittel enthaltenen Wasserspuren im (mindestens) äquimolaren Bereich zur eingesetzten Substanz liegen.

III. Phycocyanobilin und seine Derivate als Modells-substanzen

In diesem Teil der Arbeit ging es darum, ein besseres Modell als Biliverdin für den Phytochrom-Chromophor und einen Zugang zur Peptidanlagerung zu finden (Kap. I.2). Das beste Modell, der Ester des vom Phytochrom abgespaltenen Chromophors, der (2R)-2.3''-Dihydro-biliverdinsäuredimethylester (DHBVE (17a), Abb. III.1), konnte nicht

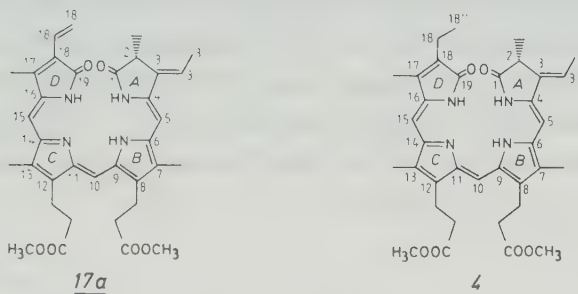
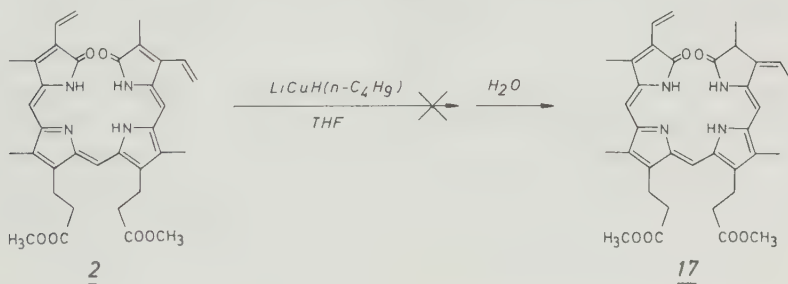


Abb. III.1: Strukturen von 4 und 17a (Stereochemie in Analogie zu Abb. I.2)

hergestellt werden, da sich BVE (2) unter den dafür notwendigen Reduktions-Bedingungen^{50,51} (vgl. Schema III.1, führt zum Racemat 17) zersetzte.



Schema III.1

Deshalb wurde die aus Blaualgen extrahierte Phycocyanobilinsäure (PCBA, 18) bzw. deren Ester (PCBE, 4) gewählt, weil hier der gewünschte, hydrierte Ring A bereits vorhanden ist (Abb. III.1). Dabei wurde angenommen, daß das Fehlen der 18',18''-Doppelbindung beim PCBE, im Vergleich zu 17a, keinen wesentlichen Einfluß auf die photophysikalischen und photochemischen Eigenschaften (vgl. Kap. I.2) des Chromophors hat.

III.1. Synthesen der Modellverbindungen

Nach Vergleich der Literaturvorschriften zur Extraktion von Phycocyanobilin aus Algen⁵²⁻⁵⁶ wurde die am geeignetsten erscheinende Methode von Scheer⁵⁷ ausgewählt. Dabei werden die Algen zur Entfernung der Hauptmengen von Chlorophyll, Carotinoiden usw. bei RT erschöpfend mit Methanol (MeOH) gewaschen und anschließend im Soxhlett mit siedendem MeOH extrahiert, wobei die Chromophor-Peptid-Bindung im C-Phycocyanin gespalten wird. Der Ester wurde sowohl in Abwandlung der Vorschrift von Siegelman^{52,56} durch Erhitzen der Säure mit Bortrifluorid in MeOH als auch durch Reaktion mit schwefelsaurem MeOH bei 0 °C hergestellt. Das so erhaltene Pigment ist laut Siegelman⁵² optisch aktiv, d.h. es findet keine Racemisierung an C(2) bei Erhitzung in MeOH statt, auch nicht in Gegenwart von Säure.

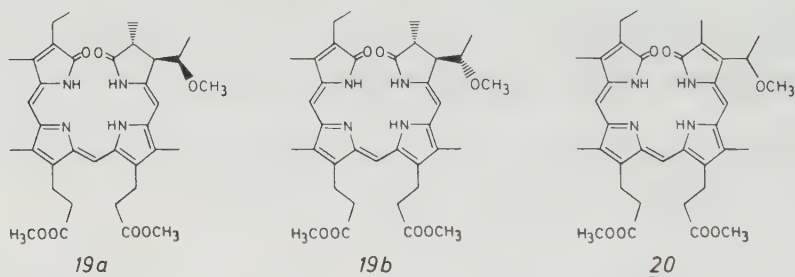


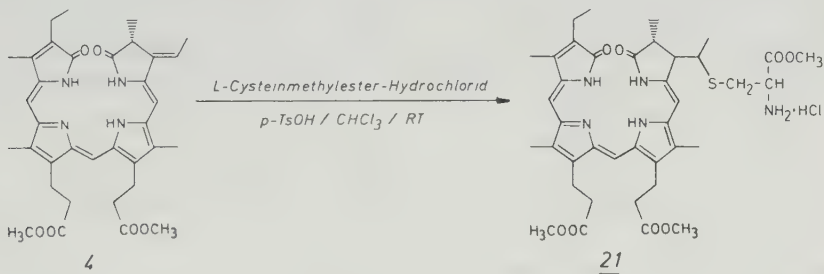
Abb. III.2: Die bei Methanol-Addition an die 3,3'-Doppelbindung entstandenen Stereoisomeren 19a und 19b, sowie das dabei erhaltene Nebenprodukt 20.

Für die Methanol-Addition an die 3,3'-Doppelbindung von PCBE fand man widersprüchliche Aussagen in der Literatur. Bei Durchführung der Reaktion in analytischen Mengen beobachtete man bei der Gossauer-Methode⁴² (Erhitzen von PCBE in reinem MeOH) auch nach acht Stunden erst Spuren der Produkte, während mit der Siegelman-Methode⁵⁶ (Reaktion nur mit einer Spur Säure möglich) schon nach ein paar Minuten der Gleichgewichtszustand erreicht wurde.

Da die Siegelman-Bedingung der der PCBE-Herstellung entspricht (s.o.), wobei die Adduktbildung eine Nebenreaktion ist, die bei längerer Reaktionszeit (> 3 min) stärker in den Vordergrund tritt⁵⁶, wurde die Veresterungsreaktion als Quelle für die gewünschten Methanol-Addukte benutzt. Diese konnten säulenchromatographisch sowohl von PCBE als

auch von einem in geringem Umfang gebildeten Nebenprodukt, dem oxidierten Methanoladdukt 20 (vgl. Abb. III.2), abgetrennt werden. Es wurde angenommen, daß es sich bei der Verbindung 20, deren Struktur an Hand der spektroskopischen Daten ermittelt wurde, um ein Gemisch der beiden Stereoisomeren an C(3') handelt, die vermutlich wegen der raschen Helixinversion²⁹ im NMR nicht unterscheidbar sind.

Die Trennung der beiden Isomeren 19a und 19b (die Zuordnung erfolgte durch Vergleich mit den Literaturdaten⁵⁸ der beiden bekannten Isomeren) selbst bereitete jedoch erhebliche Schwierigkeiten. Das beste Ergebnis wurde mit zwei separaten, nacheinander durchgeführten, säulenchromatographischen Trennungen mit unterschiedlichen Laufmitteln erzielt. Dabei erhielt man Isomer 19a in ca. 97%iger Reinheit, Isomer 19b dagegen nur mit 90%iger Reinheit. Isomer 19a wurde in Kap. III.2.1.2 untersucht.



Schema III.2

Zur Darstellung des Cystein Adduktes 21 wurde in Anlehnung an eine Vorschrift zur Cystein-Anlagerung an Succinimide⁵⁹ PCBE (4) mit einem Äquivalent (L)-Cysteinmethylester-Hydrochlorid in MeOH mit konzentrierter, wäßriger Ammoniaklösung bei RT umgesetzt. Das einzige entstandene Produkt war auf eine Verseifung des Esters durch die wäßrige Ammoniaklösung zurückzuführen, was durch einen Blindversuch bestätigt wurde. Deshalb wurde PCBE mit (L)-Cysteinmethylester-Hydrochlorid in Chloroform (CHCl₃) bei RT mit katalytischen Mengen p-Toluolsulfonsäure (p-TsOH) - die Anwesenheit von mehr p-TsOH verhindert die Reaktion und führt nur zu Zersetzungsprodukten - umgesetzt (Schema III.2). Die beiden entstandenen Hauptprodukte (vermutlich Gemisch der Isomeren 21a und 21b, vgl. Abb. III.3) konnten säulenchromatographisch getrennt werden. Eine Charakterisierung war jedoch nicht möglich (nur Hinweis aus NMR-Spektrum, daß eine

Anlagerung an C(3') stattgefunden hat, da die Signallagen und -aufspaltungen des Ringes A vergleichbar sind mit denen der Methanoladdukte), da sich die Substanz bei längerer Aufbewahrungszeit (> 2-3 Std.) in Lösung ins Ausgangsmaterial zersetzte. Dieses Produkt ist aufgrund seiner schnellen Zersetzung ungeeignet für photophysikalische Untersuchungen.

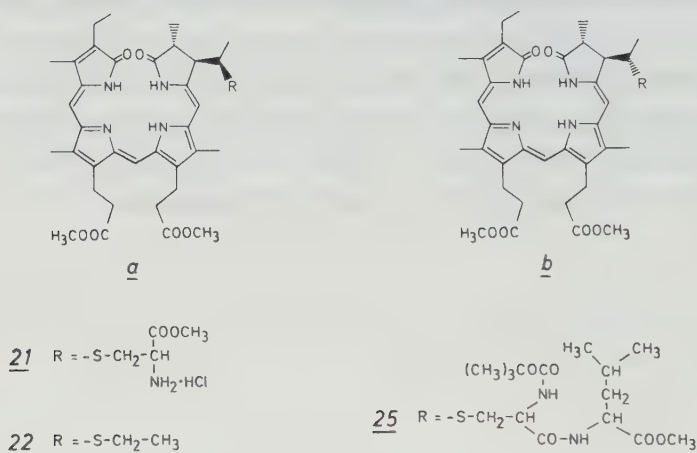


Abb. III.3: Strukturen der PCBE-Addukte 21, 22 und 25.

Für die Zersetzung gibt es folgende Erklärung:

Das erhaltene Produkt ist nur im leicht sauren Medium stabil, weil im neutralen bis basischen das Hydrochlorid gespalten wird und das nun freie Amin die Eliminierung des Cystein-Restes katalysieren kann. Die Thioetherbindung ist also sehr labil in einem Monopeptid im Gegensatz zum Heptapeptid⁶⁰, bei dem sie durch die Umgebung geschützt ist.

Zur Überprüfung, wie die Stabilität eines Adduktes mit einer Thioether-Bindung erhöht werden kann, sollten die folgenden Versuche beitragen:

1. Addition von Ethanthiol.
2. Addition eines N-geschützten Cysteins.
3. Addition eines Dipeptids.

Zu 1:

Zur Darstellung von 3,3'-Dihydro-3'-thioethoxy-phycocyanobilindimethylester (TEPCBE (22), Abb. III.3) wurde PCBE (4) mit Ethanthiol in Anwesenheit von p-TsOH als Katalysator umgesetzt. Nach Säulenchromatographie erhielt man die beiden gewünschten Isomeren 22a und 22b in 80 bzw. 98%iger Reinheit (die Strukturen wurden durch Vergleich der $^1\text{H-NMR}$ -Daten mit denen von Modellverbindungen^{42,58} zugeordnet), als Nebenprodukt das oxidierte Ethanthioladdukt 23 (die Struktur wurde durch Vergleich mit dem entsprechenden Methanoladdukt 20, vgl. S. 21, zugeordnet; vermutlich ist auch hier ein Gemisch der 3'-Stereoisomeren entstanden.), sowie Ausgangsmaterial.

Es wurde festgestellt, daß Isomer 22b in saurem MeOH instabiler war als in neutralem und dort wiederum instabiler als in neutralem CHCl_3 , in dem die Substanz auch mehrere Tage bei RT haltbar ist.

Dieses TEPCBE-Isomer wurde wie PCBE hinsichtlich seiner photophysikalischen Eigenschaften (vgl. Kap. III.3.1.2 und III.3.2.2) untersucht.

Zu 2:

Aus den Stabilitätseigenschaften von Substanz 22b kann man vermuten, daß die Instabilität des Cysteinadduktes 21 (vgl. S. 22) auf die nicht hinreichend geschützte Amin-Gruppe zurückzuführen ist. Deshalb muß bei der Herstellung eines Chromopeptids die verwendete Aminosäure immer eine stabile N-Schutzgruppe besitzen.

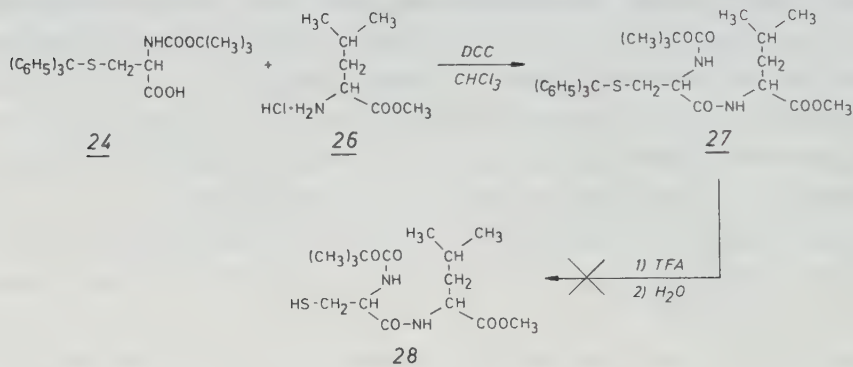
Für die Addition von N-geschütztem Cystein wurde PCBE (4) mit N-t-BOC-S-Trityl-(L)-cystein (24) in CHCl_3 unter Zusatz von Trifluoressigsäure (TFA, $\rightarrow$ in situ-Abspaltung der Tritylgruppe) behandelt. Man konnte aber keine Reaktion feststellen, sondern isolierte nur das Ausgangsmaterial. Deshalb muß zunächst die Thiolschutzgruppe des Cysteins entfernt werden, bevor erneut eine Anlagerung versucht wird.

Zu 3:

Das zur Herstellung des Chromopeptids 25 (Abb. III.3) benötigte Dipeptid 28, der N-t-BOC-(L)-cysteinyl-(L)-leucinmethylester, sollte durch Kopplung der beiden Aminosäuren N-t-BOC-S-Trityl-(L)-cystein (24) und (L)-Leucinmethylester-Hydrochlorid (26) und anschließender Abspaltung der Thiolschutzgruppe darstellbar sein (Schema III.3).

Der Umsatz der beiden Aminosäuren 24 und 26 mit DCC^{61} führte zum Dipeptid 27, das

jedoch mit TFA^{62,63} nicht in das gewünschte Produkt 28 übergang. Aus dem ¹H-NMR-Spektrum der Substanz wurde geschlossen, daß nicht nur die Trityl-, sondern auch die t-BOC-Gruppe abgespalten wurde, da auch ihr Signal (Singulett bei 1.4-1.5 ppm) fehlte.



Schema III.3

Eine andere Möglichkeit⁶⁴ zur Abspaltung der Trityl-Gruppe besteht im Umsatz der entsprechenden Aminosäure - N-t-BOC-S-Trityl-(L)-cysteinmethylester (29), hergestellt durch Veresterung der entsprechenden Säure, bzw. N-t-BOC-S-Trityl-(L)-cysteinyll-(L)-leucinmethylester (27) - mit Trimethylsilylchlorid und Natriumjodid ($\rightarrow$ in situ-Herstellung von Trimethylsilyljodid) in Acetonitril bei RT. Die Reaktionen lieferten aber nicht die gewünschten Produkte, sondern führten wieder zur zusätzlichen Abspaltung der t-BOC-Gruppen.

Es wurde keine geeignete Methode zur Abspaltung der Tritylgruppe gefunden, da die in der Literatur dafür beschriebenen Methoden gleichzeitig zur Abspaltung der t-BOC-Gruppe angewandt werden^{63,65}, bzw. speziell für die Peptidsynthese entwickelt worden sind. Das heißt, dort werden Methoden beschrieben, die bevorzugt die Amin- oder Säureschutzgruppe abspalten, während die Schutzgruppen für andere funktionelle Gruppen nicht angegriffen werden sollen. Dieses ist jedoch die genau entgegengesetzte Zielrichtung der hier benötigten und trägt also nicht zur Lösung der oben beschriebenen Probleme bei.

III.2. Photochemie

III.2.1. Phycocyanobilindimethylester

Nach der Belichtung von PCBE (4) in Lösung in Anwesenheit von Sauerstoff-Spuren wurde eine Änderung im Absorptionsspektrum beobachtet (Abb. III.4.a). Die Kinetik dieser Photoreaktion (analytische Belichtungen, Kap. III.2.1.1.) und die dabei entstehenden Photoprodukte (präparative Belichtungen, Kap. III.2.1.2.) wurden eingehend untersucht.

III.2.1.1. Kinetik der Photoreaktion

Wegen der Änderung im Absorptionsspektrum bot es sich an, die analytischen Belichtungen mit Hilfe von UV-VIS-Differenzspektren zwischen belichteten und unbelichteten Proben zu verfolgen.

Die $(1-3) \cdot 10^{-5}$ molaren Lösungen wurden belichtet (Bedingungen und Apparatur siehe exp. Teil S. 139) und durch Aufnahme von UV-VIS-Differenzspektren in festen Zeitabständen kontrolliert, wobei man eine Bleichung der Absorptionsbanden von PCBE ($\lambda_{\max} = 368, 600 \text{ nm}$) und das Auftreten von zwei neuen Absorptionsbanden ($\lambda_{\max} = 320, 520-580 \text{ nm}$) beobachten konnte (Abb. III.4.b). Es wurde jeweils die Abnahme der PCBE-Absorption A ausgewertet, da man dort - im Gegensatz zur Zunahme - nur eine Substanz beobachtet. Dafür wurde (je nach Lösungsmittel) eine Wellenlänge von 610-620 nm gewählt, da dort das Maximum der Abnahme war und außerdem keine Überlagerung mit den Produkten auftrat (vgl. Abb. III.12, S. 37). Daraus wurden Diagramme erstellt, die die prozentuelle Abnahme $\Delta A/A_0$ (ΔA = gemessene Absorptionsdifferenz, A_0 = Absorption vor der Belichtung) bei der entsprechenden Wellenlänge in Abhängigkeit von der Belichtungszeit t wiedergeben. Aus der Steigung der resultierenden Geraden (z.B. Abb. III.5) erhält man die Reaktionsgeschwindigkeit RG unter den jeweils gewählten Bedingungen.

Als erstes wurde die Kinetik von Argon gespülten Lösungen untersucht, wobei festgestellt wurde, daß sich trotz Verwendung von 99.996%igem (Herstellerangabe) Argon und eines Oxisorb-Filters noch Reste von Sauerstoff in der Lösung befanden. Dieses war aber nicht auf das verwendete Gas zurückzuführen, sondern darauf, daß durch den Spülvorgang der

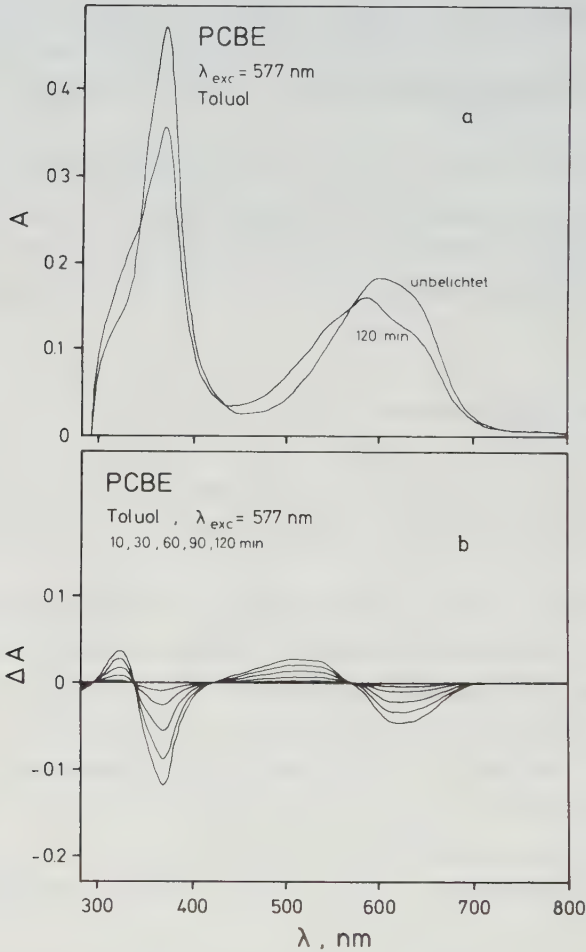


Abb. III.4: Absorptions-Spektrum (a) von belichteter (2 h) und unbelichteter PCBE-Lösung, sowie das dazugehörige Absorptionsdifferenz-Spektrum (b); sauerstoffarme Lösung.

bereits vorhandene Sauerstoff nicht vollständig verdrängt werden kann, so daß immer noch ein Rest gelöst bleibt, wobei diese Restkonzentration ($[O_2] \approx 10^{-5} \text{--} 10^{-6} \text{ M}$) vom Lösungsmittel abhängig ist⁶⁶.

Diese Bedingungen, die im folgenden als "sauerstoffarme Lösung" bezeichnet werden, wurden trotz des Sauerstoffgehaltes benutzt, da diese den Bedingungen der Optoakustik-

Spektroskopie (OAS, Kap. III.3.2) - es ist schwierig, damit entgaste Lösungen zu messen - entsprachen, so daß die erhaltenen Ergebnisse miteinander verglichen werden konnten.

Es wurde zuerst untersucht, ob die Reaktionsgeschwindigkeit **RG** durch

- a) die eingestrahlte Wellenlänge,
- b) das Lösungsmittel und
- c) die Konzentration der Probe beeinflusst wird.

Zu a: Wellenlängenabhängigkeit (Abb. III.5)

Die Belichtungen von PCBE wurden in Toluol ($\approx 1.8 \cdot 10^{-5}$ M; Abb. III.5.a) und in Methanol (+ 10 mM TEA, zur Stabilisierung der neutralen PCBE-Form, $\approx 1.8 \cdot 10^{-5}$ M; Abb. III.5.b) durchgeführt. Die in den Abbildungen dargestellten Werte sind entsprechend

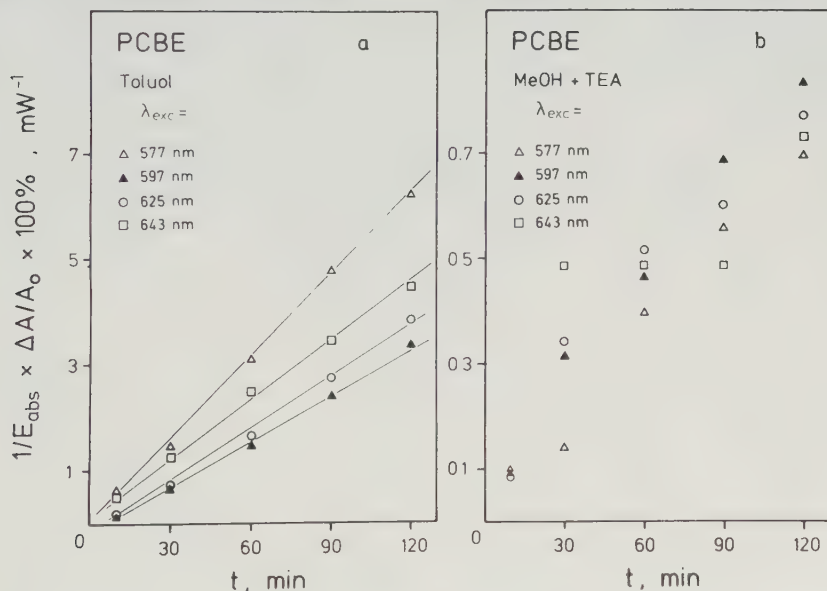


Abb. III.5: Belichtung von PCBE ($\approx 1.8 \cdot 10^{-5}$ M) in Toluol (a) und Methanol (b) bei verschiedenen Wellenlängen, $\lambda_{\text{obs}} = 610-620$ nm; sauerstoffarme Lösungen.

der Intensität des Lichtes (vgl. Messung der Strahlungsintensität, exp. Teil) und der Absorbanz ($1 - 10^{-A}$) der Lösung bei der jeweiligen Belichtungswellenlänge korrigiert. Da der relative Fehler der Messung in Methanol aufgrund der kleinen Meßwerte sehr groß

ist (der absolute Fehler ist genauso groß wie bei der Toluol-Messung), erklärt sich die große Streuung dieser Meßwerte im Vergleich zur Messung in Toluol.

Zu b: Lösungsmittelabhängigkeit (Abb. III.6)

Für die sauerstoffarmen Proben ($(1.7-2.8) \cdot 10^{-5}$ M) wurden die folgenden Lösungsmittel verwendet:

	A(600 nm)	λ^{exc} , nm
bΔ Methanol z.A. + 10 mM TEA	0.311	577
b▲ Methanol z.A.	0.328	577
b□ DME z.S. bas. Al_2O_3 chrom.	0.338	577
a■ Toluol z.A.	0.322	360
a▲ Toluol,techn. bas. Al_2O_3 chrom.	0.430	360
b■ Toluol z.A. bas. Al_2O_3 chrom.	0.322	577
bo Benzol z.A.	0.352	577
ao Benzol z.A.	0.290	360
a□ Benzol z.A./DMSO = 9:1	0.325	360
aΔ DMSO	0.470	360

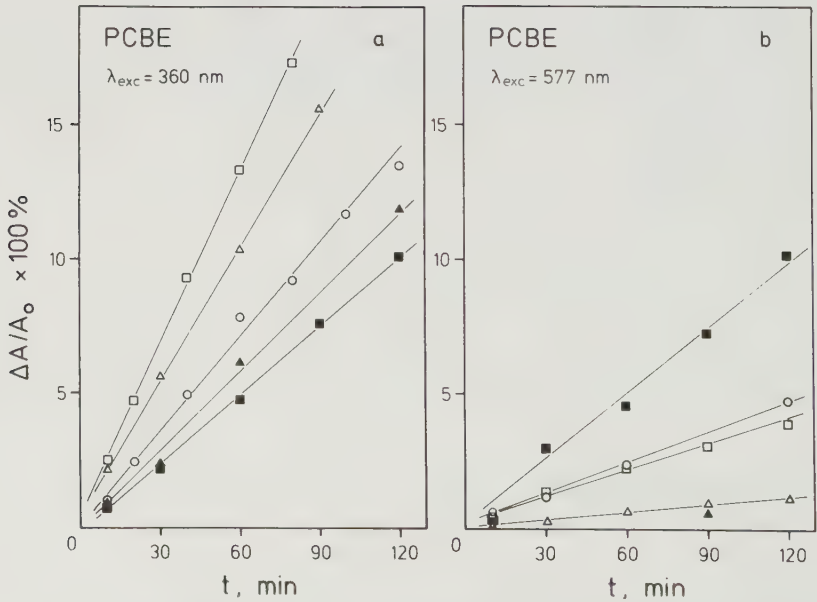


Abb. III.6: Belichtungen von PCBE ($(1.7-2.8) \cdot 10^{-5}$ M) in verschiedenen Lösungsmitteln mit $\lambda^{exc} = 360$ nm (a) und 577 nm (b), $\lambda^{obs} = 610-620$ nm; sauerstoffarme Lösungen.

Bei der Belichtung von PCBE ($1.7 \cdot 10^{-5}$ M) in seiner protonierten Form ($\text{PCBE} \cdot \text{H}^+$) in saurem Toluol (+ 10 mM TFA) mit $\lambda^{\text{exc}} = 643$ nm ($\lambda_{\text{max}} = 374, 646$ nm) wurde nach zwei Stunden nur eine Abnahme der Absorption bei 680 nm von ca. 2% beobachtet.

Die Belichtung von $\text{PCBE} \cdot \text{H}^+$ ($1.8 \cdot 10^{-5}$ M) in saurem Methanol (+ 10 mM TFA) mit $\lambda^{\text{exc}} = 696$ nm ($\lambda_{\text{max}} = 374, 696$ nm) führte nach zwei Stunden zu einer Abnahme der Absorption bei 700 nm, die kleiner als 1% war.

Zu c: Konzentrationsabhängigkeit (Abb. III.7)

Die Belichtungen wurden in Toluol mit der Wellenlänge $\lambda^{\text{exc}} = 577$ nm durchgeführt. Die Abweichungen (vgl. Abb. III.7.b) bei den konzentrierteren Lösungen ($> 100 \mu\text{M} \hat{=} A_{600 \text{ nm}} > 1.6$) erklären sich dadurch, daß die Proben selbst in einer 1 mm-Küvette nur noch an der Grenzschicht absorbieren.

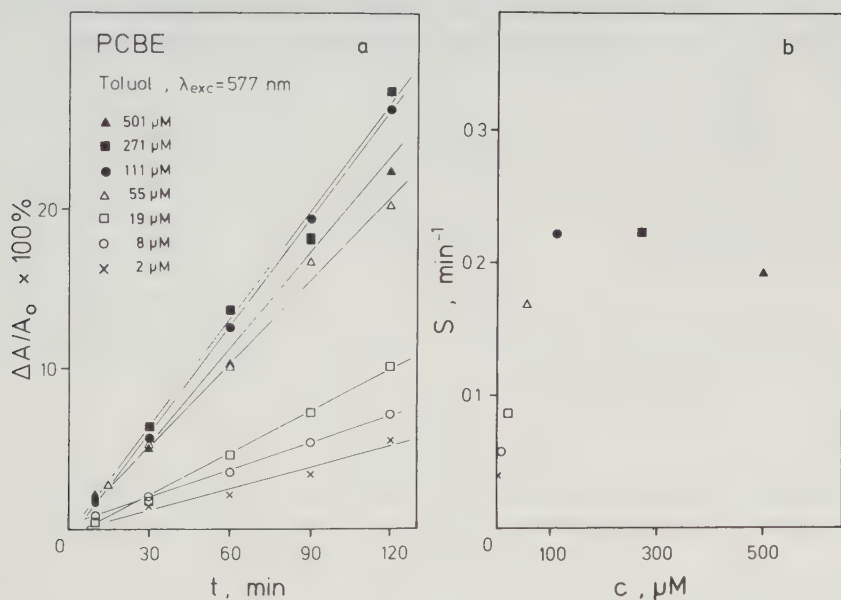


Abb. III.7: Belichtung von PCBE in Toluol mit $\lambda^{\text{exc}} = 577$ nm bei verschiedenen Konzentrationen, $\lambda^{\text{obs}} = 610$ nm; b zeigt die Auftragung der Geradensteigung aus a gegen die Konzentration; sauerstoffarme Lösungen.

Aus den in den Abbildungen III.5 - III.7 dargestellten Abhängigkeiten ergeben sich Reaktionsgeschwindigkeiten mit den Reihenfolgen (von links nach rechts ansteigende Werte für RG):

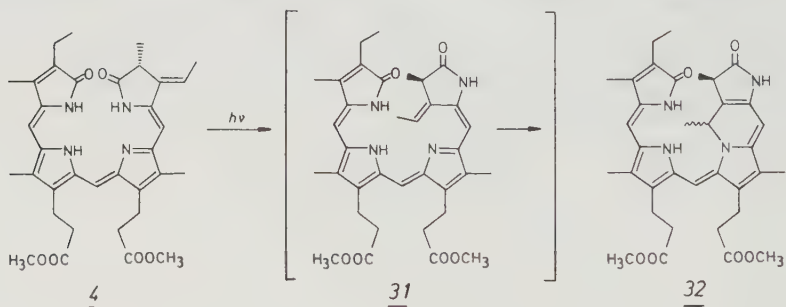
a) MeOH + 10 mM TEA < DME < Benzol < Toluol < DMSO;

im sauren Medium ist die Reaktionsgeschwindigkeit um einen Faktor von ≈ 10 kleiner als im neutralen Medium.

b) 597 nm < 625 nm < 643 nm < 577 nm in Toluol

c) 10^{-6} M < 10^{-5} M < 10^{-4} M in Toluol.

Aufgrund der Ähnlichkeit der Differenzspektren zu denen der Belichtung der IX γ - und IX δ -Isomeren von Biliverdindimethylester⁴⁰ könnte man vermuten, daß auch beim PCBE ein Ringschluß (zu 32; Schema III.4) stattgefunden haben könnte, wobei es sich hier um einen Ringschluß zwischen der 3,3'-Doppelbindung und dem Stickstoff N(22) (Ring B) nach erfolgter Z $\rightarrow$ E-Isomerisierung der 4,5-Doppelbindung zu 31 handeln könnte.



Vermutung (Kap. III.2.1.2.).

Nachdem festgestellt worden war, daß Sauerstoff eine wesentliche Rolle bei dieser Reaktion spielte (Identifizierung der Produkte), wurde untersucht

1. ob alle beobachteten Produkte Sauerstoff für ihre Bildung benötigten und
2. um welchen Reaktionstypus es sich hier handelt:

Photooxidation Typ I (Reaktion mit Sauerstoff im Grundzustand, O_2) oder Photooxidation Typ II (Reaktion mit Sauerstoff im ersten angeregten Singulett-Zustand, $O_2(^1\Delta_g)$, im folgenden kurz mit 1O_2 bezeichnet).

Punkt 2 ist besonders interessant, weil das Vorliegen einer Photooxidation vom Typ II ein Beweis für die direkte Bildung eines Triplett-Zustands bei Anregung eines Bilatriens wäre. Bisher war ein solches Triplett nur durch Sensibilisierung erzeugt worden⁶⁷.

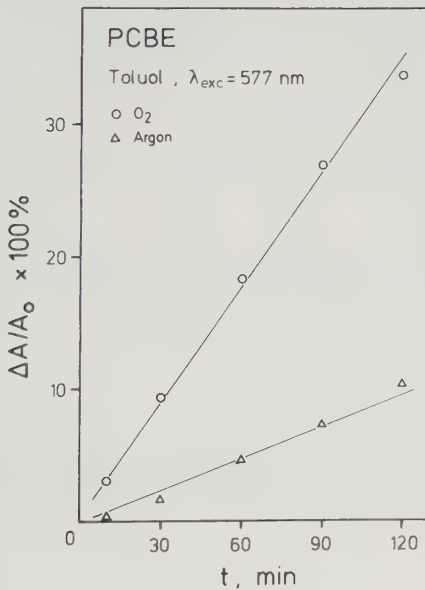


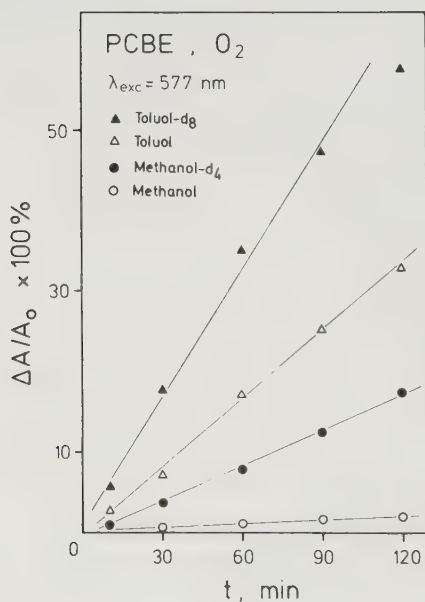
Abb. III.8:

Belichtung von PCBE in Toluol mit $\lambda_{exc} = 577 \text{ nm}$, $\lambda_{obs} = 615 \text{ nm}$. Vergleich zwischen sauerstoffarmer (△) und sauerstoffgesättigter (○) Lösung.

Zu 1:

Es wurde eine sauerstofffreie (entgast, vgl. exp. Teil) Lösung belichtet ($\lambda^{\text{exc}} = 577 \text{ nm}$), wobei auch nach 6.5 Stunden weder eine Bleichung der Absorptionsbanden von PCBE noch das Auftauchen einer neuen Bande festzustellen war. Ohne Sauerstoff findet also keine Reaktion statt, bis auf die in der Literatur bereits beschriebene E→Z-Isomerisierung der 3,3'-Doppelbindung⁶⁸, die jedoch mit Hilfe der UV-VIS-Differenzspektren nicht beobachtet werden kann, da die beiden Isomeren kaum unterscheidbare Absorptionsspektren ($\Delta\lambda_{\text{max}} \leq 5 \text{ nm}$) besitzen.

Außerdem wurden die Wellenlängen- und Konzentrationsabhängigkeiten mit sauerstoffgesättigten Lösungen ($[\text{O}_2] \approx 10^{-3}\text{-}10^{-2} \text{ M}$ ⁶⁹) wiederholt. Die analog durchgeführten Belichtungen lieferten das gleiche Ergebnis wie die der sauerstoffarmen Proben, nur daß die Reaktionsgeschwindigkeiten um einen Faktor von ca. 3.3 größer waren (Abb. III.8).



Toluol:

$$\frac{RG^D}{RG^H} = 1.97 \pm 0.29$$

Methanol:

$$\frac{RG^D}{RG^H} = 8.48 \pm 1.02$$

Abb. III.9:

Belichtung von sauerstoffgesättigten PCBE-Lösungen in Toluol ($1.5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$) und Methanol ($1.9 \cdot 10^{-5} \text{ M}$) mit $\lambda^{\text{exc}} = 577 \text{ nm}$, $\lambda^{\text{obs}} = 615$ oder 610 nm . Vergleich: deuteriert (RG^D) ↔ nicht deuteriert (RG^H).

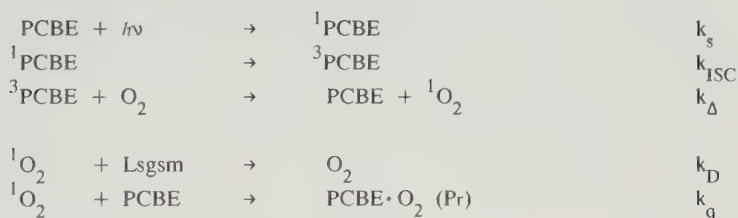
Zu 2:

Handelt es sich um eine Photooxidation vom Typ II, so müßte sich die Reaktionsge-

schwindigkeit beim Übergang auf das entsprechende deuterierte Lösungsmittel erhöhen, da die Konzentration von $^1\text{O}_2$ wegen seiner dort höheren Lebensdauer τ_{Δ} größer ist als in dem jeweiligen nicht deuterierten^{70,71}.

Dieses wurde überprüft, indem Belichtungen in Toluol mit denen in Toluol- d_8 (beide Lösungsmittel wurden vorher über bas. Al_2O_3 chromatographiert) und Belichtungen in Methanol mit denen in Methanol- d_4 verglichen wurden, die unter gleichen Bedingungen (15-20 μM PCBE, sauerstoffgesättigt, $\lambda^{\text{exc}} = 577 \text{ nm}$) durchgeführt worden waren. Die bei der Auswertung bestimmten Reaktionsgeschwindigkeiten der deuterierten Lösungsmittel wurden mit denen der nicht deuterierten ins Verhältnis gesetzt (Abb. III.9).

Ausgehend von der Tatsache (Kap. III.3.3), daß PCBE sowohl ein $^1\text{O}_2$ -Sensibilisator als auch ein $^1\text{O}_2$ -Löcher ist, und mit dem sich daraus ergebenden Mechanismus (Schema III.5), der die bei der Belichtung auftretenden physikalischen Prozesse beschreibt, können diese Daten erklärt werden.



Schema III.5: Rechts sind die Geschwindigkeitskonstanten k der einzelnen Schritte angegeben, die Indizes bedeuten dabei: s = Absorption und Singulett-Bildung, ISC = Intersystem Crossing, Δ = Bildung von $^1\text{O}_2$, D = Löschung von $^1\text{O}_2$ durch das Lösungsmittel, q = Löschung von $^1\text{O}_2$ durch PCBE.

Bei den Belichtungen wurde jeweils die Reaktionsgeschwindigkeit der Bleichung und damit gleichzeitig die der Produktbildung dPr/dt bestimmt. Aus der letzten Zeile des Mechanismus erhält man die Beziehung zwischen der Reaktionsgeschwindigkeit RG und der in der Lösung vorhandenen $^1\text{O}_2$ -Konzentration mit:

$$\text{RG} = \frac{\text{dPr}}{\text{dt}} = k_q \cdot [^1\text{O}_2] \quad \text{III.1}$$

$[^1\text{O}_2]$ wird für den stationären Zustand beschrieben durch:

$$[{}^1\text{O}_2] = \frac{k_{\Delta} \cdot [\text{O}_2] \cdot [{}^3\text{PCBE}]}{k_{\text{D}} + k_{\text{q}} \cdot [\text{PCBE}]} \quad \text{III.2}$$

Einsetzen von III.2 in III.1 liefert:

$$\text{RG} = k_{\text{q}} \cdot \frac{k_{\Delta} \cdot [\text{O}_2] \cdot [{}^3\text{PCBE}]}{k_{\text{D}} + k_{\text{q}} \cdot [\text{PCBE}]} \quad \text{III.3}$$

Setzt man die Reaktionsgeschwindigkeiten von deuteriertem (Index **D**) und nicht deuteriertem (Index **H**) Lösungsmittel ins Verhältnis zueinander, so erhält man den Ausdruck

$$\frac{\text{RG}^{\text{D}}}{\text{RG}^{\text{H}}} = \frac{k_{\Delta}^{\text{D}} \cdot [\text{O}_2] \cdot [{}^3\text{PCBE}]^{\text{D}}}{k_{\Delta}^{\text{H}} \cdot [\text{O}_2] \cdot [{}^3\text{PCBE}]^{\text{H}}} \cdot \frac{k_{\text{D}}^{\text{H}} + k_{\text{q}} \cdot [\text{PCBE}]}{k_{\text{D}}^{\text{D}} + k_{\text{q}} \cdot [\text{PCBE}]} \quad \text{III.4}$$

Mit den Annahmen, daß sowohl die Bildung von ${}^1\text{O}_2$ (k_{Δ}) als auch die Konzentration von ${}^3\text{PCBE}$ (abhängig von k_{ISC}) unabhängig vom Deuterierungsgrad des Lösungsmittels ist, d.h.:

$$k_{\Delta}^{\text{H}} = k_{\Delta}^{\text{D}} \quad \text{und} \quad k_{\text{ISC}}^{\text{H}} = k_{\text{ISC}}^{\text{D}}$$

vereinfacht sich dieser Ausdruck zu

$$\frac{\text{RG}^{\text{D}}}{\text{RG}^{\text{H}}} = \frac{k_{\text{D}}^{\text{H}} + k_{\text{q}} \cdot [\text{PCBE}]}{k_{\text{D}}^{\text{D}} + k_{\text{q}} \cdot [\text{PCBE}]} \quad \text{III.5}$$

Mit Hilfe dieser Gleichung läßt sich das Verhältnis für die benutzten Lösungen berechnen. Die k_{D} -Werte erhält man als reziproke Werte der in der Literatur⁷⁰ angegebenen Lebensdauern τ_{Δ} von ${}^1\text{O}_2$. Die Geschwindigkeitskonstante von PCBE für die Löschung von ${}^1\text{O}_2$ in neutraler Lösung wurde bestimmt zu $k_{\text{q}} = 3.4 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (Kap. III.3.3.3).

Berechnung für die einzelnen Lösungsmittel:

Lsgsm	$\tau_{\Delta}, \mu\text{s}$	$k_{\text{D}}, \text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	$[\text{PCBE}], \text{M}$	$\text{RG}^{\text{D}}/\text{RG}^{\text{H}}$
Toluol-d ₈	320	3125	$1.52 \cdot 10^{-5}$	5.04
Toluol	29	34483	$1.49 \cdot 10^{-5}$	
MeOH-d ₄	227	4405	$1.94 \cdot 10^{-5}$	10.84
MeOH	9.5	105263	$1.86 \cdot 10^{-5}$	

Die Abweichung der gemessenen von den berechneten Werten kann auf Spuren von Wasser ($\tau_{\Delta}(\text{H}_2\text{O}) = 4.4 \mu\text{s}^{72}$) zurückgeführt werden, die in unterschiedlichen Mengen in den jeweiligen Lösungsmitteln enthalten sind. Dieses macht sich beim deuterierten Lösungsmittel stärker bemerkbar als beim nicht deuterierten (τ_{Δ} ist im deuterierten größer als im nicht deuterierten), so daß der Unterschied in der Lebenszeit und entsprechend in der $^1\text{O}_2$ -Konzentration verringert und somit das Verhältnis der gemessenen Reaktionsgeschwindigkeiten kleiner wird als das der berechneten.

Trotzdem erhält man aus diesem Experiment einen Hinweis für die Beteiligung von $^1\text{O}_2$ an der Photooxidation, da die Reaktionsgeschwindigkeiten im deuterierten Lösungsmittel immer größer waren als im nicht deuterierten (vgl. Abb. III.9).

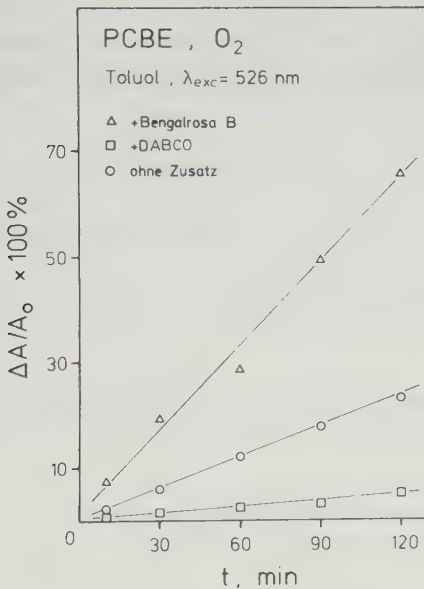


Abb. III.10:

Belichtung von PCBE in sauerstoffgesättigtem Toluol mit $\lambda_{\text{exc}} = 526 \text{ nm}$ ($\lambda_{\text{obs}} = 615 \text{ nm}$) von

○: $1.7 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ PCBE,

Δ: $1.8 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ PCBE mit 0.2 g/l Bengalrosa B an Polystyrol gebunden ($\approx 0.3 \text{ mmol/g Harz}$),

□: Δ + DABCO ($\geq 200 \text{ mM}$).

Eine weitere Möglichkeit zur Überprüfung, ob eine Photooxidation vom Typ II beobachtet wurde, ist die Messung der Reaktionsgeschwindigkeiten in Abhängigkeit von der $^1\text{O}_2$ -Konzentration. Zur Herstellung verschiedener $^1\text{O}_2$ -Konzentrationen ist zum einen der Zusatz eines $^1\text{O}_2$ -Löschers (für sehr kleine Konzentrationen) und zum anderen der Zusatz eines guten $^1\text{O}_2$ -Sensibilisators (für sehr große Konzentrationen) nötig, wobei letzterer so gewählt werden sollte, daß er mit einer Wellenlänge angeregt werden kann, bei der PCBE

nicht oder nur sehr wenig absorbiert.

Benutzt wurden dafür das an Polystyrol gebundene Bengalrosa B (kristallines ist nicht löslich in Toluol, durch die Bindung an das Harz hat es außerdem in der Suspension eine sehr große Oberfläche) als Sensibilisator und 1,4-Diazobicyclo-[2.2.2]-octan (DABCO) als Löscher ($k_q(\text{Benzol}) = 4.0 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)⁷³.

Bei den Belichtungen von PCBE, PCBE + Bengalrosa B und PCBE + Bengalrosa B + DABCO in sauerstoffgesättigtem Toluol bei $\lambda^{\text{exc}} = 526 \text{ nm}$ (Abb. III.10) konnte man ein Ansteigen der Reaktionsgeschwindigkeit **RG** in der gezeigten Reihenfolge beobachten: PCBE + DABCO < PCBE < PCBE + Bengalrosa B.

Auch dieses Resultat ist ein Beweis dafür, daß die Photooxidation über $^1\text{O}_2$ verläuft.

Alle Ergebnisse sind zugleich ein Beweis, daß PCBE ein $^1\text{O}_2$ -Sensibilisator ist und somit einen Triplett-Zustand bildet, dessen Quantenausbeute zu $\Phi_T \leq 2 \cdot 10^{-4}$ abgeschätzt werden konnte (vgl. Kap. III.3.3.1).

Nach Trennung und Charakterisierung (Kap. III.2.1.2) der bei der Photoreaktion entstandenen "Hauptprodukte" (vgl. Abb. III.11) stellten sich die Fragen

1. ob das Produktverhältnis abhängig ist von der $^1\text{O}_2$ -Konzentration oder der O_2 -Konzentration und
2. ob sie parallel oder nacheinander - d.h. das Tripyrrinon 33 das Folgeprodukt einer weiteren Oxidation der Photodimeren 34, 35 und 36 ist - gebildet werden.

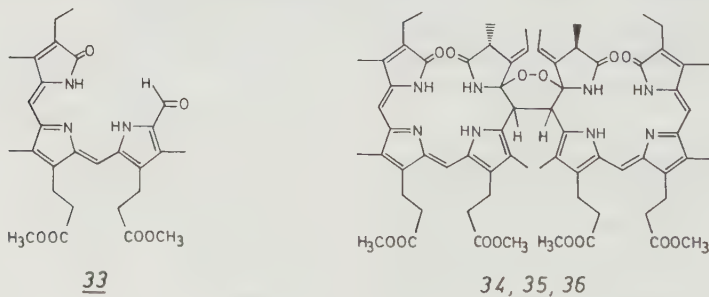


Abb. III.11: Strukturen der roten (33) und violetten (34, 35 und 36) Belichtungsprodukte.

Zur Beantwortung dieser Fragen wurde die Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC mit $\lambda^{\text{det}} = 335 \text{ nm}$, vgl. UV-VIS-Spektren, Abb. III.12) als analytische Methode benutzt, wobei nur die Peaks der Substanzen 4 (PCBE), 33 und 34 ausgewertet wurden. Die Peaks der Substanzen 35 und 36 blieben unberücksichtigt, da sie Stereoisomere von 34 sind - der Entstehungsweg ist also der gleiche - und außerdem in noch kleinerer Menge als 34 gebildet wurden.

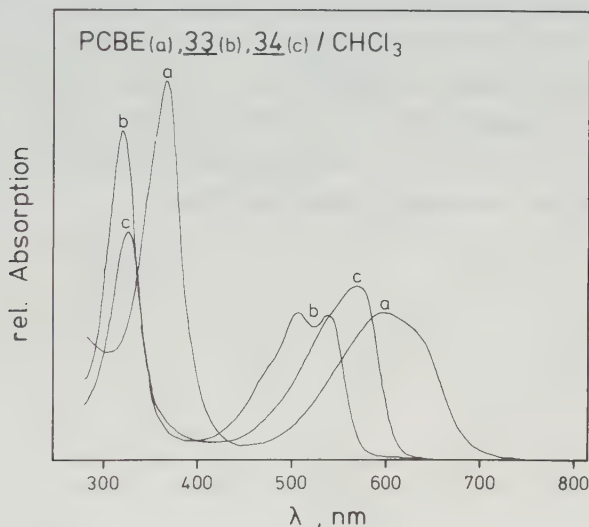


Abb. III.12: Absorptionsspektren von PCBE (a), 33 (b) und 34 (c) in CHCl_3 .

Zu 1:

Bei den unter den entsprechenden Bedingungen - a) sauerstoffarm, b) sauerstoffgesättigt und c) sauerstoffgesättigt + Bengalrosa B, an Polystyrol gebunden - belichteten Lösungen (genaue Durchführung siehe exp. Teil) konnte man beobachten, daß nur bei der sauerstoffarmen Probe sowohl Produkt 33 als auch 34 (und somit auch 35 und 36) entstanden waren. Bei den anderen (b und c) wurde nur die Bildung von 33 festgestellt. Durch den Vergleich der Belichtungsergebnisse einer sauerstoffarmen PCBE-Lösung ohne und mit Bengalrosa B als $^1\text{O}_2$ -Sensibilisator konnte nachgewiesen werden, daß auch die violetten Produkte über $^1\text{O}_2$ gebildet werden. Das Produktverhältnis ist also abhängig von der O_2 -Konzentration und zwar in der Weise, daß die Photodimeren 34, 35 und 36 nur dann

zusammen mit dem Tripyrrinon 33 entstehen, wenn diese O_2 -Konzentration ungefähr im äquimolaren Bereich zum eingesetzten PCBE liegt, was bei der sauerstoffarmen Lösung der Fall ist.

Deshalb wurde diese Bedingung auch zur Beantwortung der zweiten Frage gewählt:

Zu 2:

Es wurden sauerstoffarme Lösungen zwischen 5 min (bei einer noch kürzeren Belichtungszeit wäre wegen der nur geringen Umsetzung keine Detektion der Produkte möglich, vgl. Abb. III.13) und 360 min belichtet ($\lambda^{exc} = 577 \text{ nm}$) und die Produktgemische mit der HPLC untersucht (genaue Durchführung siehe exp. Teil). Es wurden die Peaks der Substanzen I_p (I = integrierte Fläche in willkürlichen Einheiten) ausgewertet (vgl. Abb. III.14.a) als prozentueller Anteil an der Produktsomme I_s (inklusive nicht umgesetztes PCBE, das jeweils der Hauptmenge $\approx 70\text{-}98\%$ entsprach).

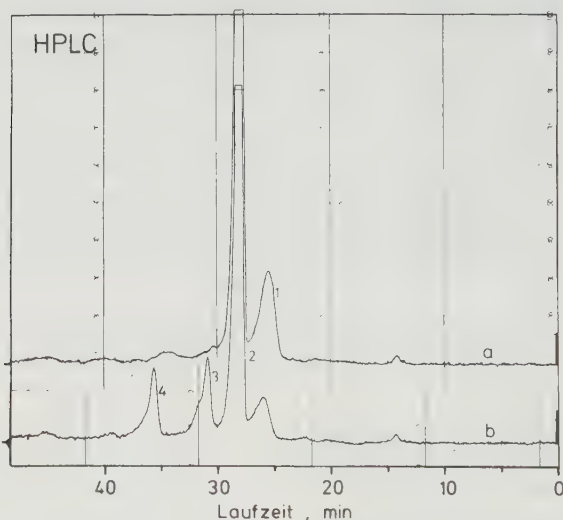


Abb. III.13: HPLC-Chromatogramm (vorderer Teil) einer unbelichteten (a) und belichteten (5.5 h, b) PCBE-Lösung. Peaks 1 und 2 entsprechen PCBE - Aufspaltung bedingt durch Verschiedenheit des Lösungsmittels ($CHCl_3$) und Laufmittels -. Peak 3 entspricht Produkt 33, Peak 4 Produkt 34.

Es wurde festgestellt, daß schon bei der kürzesten Belichtungszeit (5 min) beide Produkte (33 und 34) vorhanden waren und im Laufe der Belichtungszeit mit gleichbleibendem Verhältnis zunahmen (Abb. III.14.a). Daraus kann man schließen, daß die Produkte 33 und 34 parallel und nicht nacheinander entstehen. Diesen Schluß kann man trotz des sehr

großen Fehlers der Messungen ($\approx 20\text{-}30\%$) ziehen. Als Vergleich ist in Abb. III.14.b die prozentuelle Abnahme der Absorption während dieser Belichtungen gezeigt.

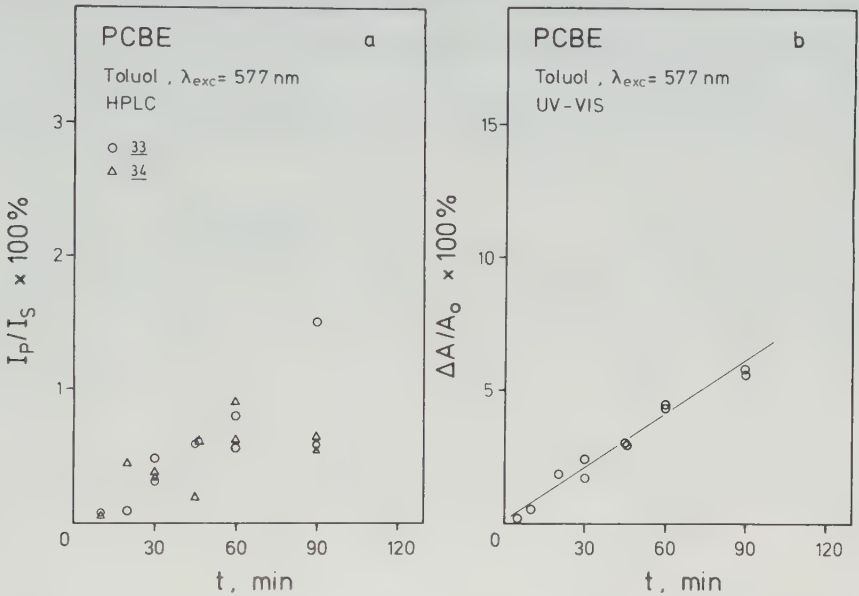


Abb. III.14: Untersuchung der Produktbildung (zeitabhängig) mit Hilfe der HPLC (a). Als Vergleich die Beobachtung der Bleichung von PCBE in sauerstoffarmer Lösung mit der UV-VIS-Spektroskopie, $\lambda^{obs} = 615\text{-}620 \text{ nm}$ (b).

Bestimmung der Quantenausbeuten der Photoreaktion

Die Quantenausbeute eines Photoproduktes ist definiert als

$$\Phi_{Pr} = \frac{n_{Pr}}{n_{abs}} \quad \text{III.6}$$

wobei n_{Pr} die Anzahl der gebildeten Produktmoleküle ist und n_{abs} die Anzahl der von der Ausgangssubstanz absorbierten Photonen.

a) Bestimmung von n_{abs}

Da weder ein Quantenzähler noch ein Aktinometer für den benötigten Wellenlängenbereich (550-650 nm) benutzt werden konnte, mußte n_{abs} mit Hilfe der gemessenen Strahlungs-

leistung **P** (Strahlungsfluß) der jeweiligen Wellenlänge (vgl. Messung der Strahlungsleistung, exp. Teil) bestimmt werden. Dafür mußte zunächst die für die einzelnen Wellenlängen gemessene Strahlungsleistung am Ort der Probe umgerechnet werden in Photonen (in mol) pro Zeit, wofür man von der folgenden Gleichung ausgeht:

$$\text{III.7} \quad E = N \cdot h \cdot \nu = N \cdot h \cdot c / \lambda \quad , \quad \begin{array}{l} N = \text{Anzahl der Photonen} \\ h = \text{Planck-Konstante} \\ c = \text{Lichtgeschwindigkeit} \end{array}$$

Mit

$$\text{III.8} \quad n = N / N_A \quad \begin{array}{l} N_A = \text{Avogadro-Zahl} \\ n = \text{Photonen in mol} \end{array}$$

erhält man durch Umformen von (III.7)

$$\text{III.9} \quad n = \frac{E \cdot \lambda}{N_A \cdot h \cdot c} \quad .$$

Der gemessene Strahlungsfluß **P** wird beschrieben durch die Gleichung:

$$\text{III.10} \quad P = E / t \quad .$$

Einsetzen von (III.10) in (III.9) führt zu:

$$\text{III.11} \quad n = \frac{P \cdot t \cdot \lambda}{N_A \cdot h \cdot c}$$

$$\text{III.12} \quad \frac{n}{t} = \frac{1}{N_A \cdot h \cdot c} \cdot P \cdot \lambda \quad .$$

Einsetzen der Werte für N_A , h und c liefert

$$\text{III.13} \quad n/t = 8.38 \cdot P \cdot \lambda \quad .$$

Nach Gleichung (III.13) erhält man die folgenden Ergebnisse:

λ , nm	P, mW	n/t , mol $\cdot$ s ⁻¹
577.0	3.33	$1.61 \cdot 10^{-8}$
597.0	3.75	$1.88 \cdot 10^{-8}$
625.8	3.71	$1.95 \cdot 10^{-8}$
643.2	3.07	$1.65 \cdot 10^{-8}$

Zur Bestimmung der absorbierten Quanten (Spalte 9, Tabelle III.1) wurde die folgende Gleichung benutzt:

$$\text{III.14} \quad n_{\text{abs}} = n/t \cdot (1-10^{-A}) \cdot t_{\text{bel}} \quad n/t = \text{vgl. Gl. III.13}$$

A = Absorption der Probe bei 577 nm
 t_{bel} = Belichtungszeit (Spalte 2)
 $1-10^{-A}$ = Absorbanz der Probe bei 577 nm (Spalte 8)

Da sich während der Belichtung der Probe die Absorption teilweise sehr stark änderte (bis zu 50%), konnte man für A nicht die Absorption zu Beginn der Belichtung einsetzen. Man nahm statt dessen den Mittelwert der Anfangs- (A_a / Spalte 6) und Endabsorptionen (A_e / Spalte 7), also:

$$A = \frac{A_a + A_e}{2}$$

Diese Mittelwertbildung ist zulässig, da bei den kinetischen Untersuchungen der Photoreaktion eine lineare Abnahme beobachtet worden war (vgl. S. 25).

b) Bestimmung von n_{Pr}

Die Anzahl der gebildeten Produktmoleküle wurde mit Hilfe der HPLC (vgl. Eichung der HPLC, exp. Teil) bestimmt. Dafür wurde auf die bereits gewonnenen Daten (S. 37f) zurückgegriffen und diese mittels der Eichgeraden ausgewertet (vgl. Spalten 3 - 5, Tabelle III.1).

Aus diesen Werten (Punkt a und b) ließen sich die Quantenausbeuten der Produkte 33 und 34 berechnen (siehe Spalten 13 und 14, Tabelle III.1) und man erhielt die Mittelwerte:

$$\phi_{33} = (1.2 \pm 0.6) \cdot 10^{-5}$$

$$\phi_{34} = (4.7 \pm 2.7) \cdot 10^{-6}$$

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Pr.	t _{bel}	Menge in 3 ml/10 ⁻⁹ mol			A _{577nm}		1·10 ⁻⁴	n _{abs}	Φ _{Pr}	n _{bl}	Φ _{bl}	
	min	PCBE	<u>33</u>	<u>34</u>	A _a	A _e		10 ⁻⁵ mol	<u>33</u> /10 ⁻⁵	<u>34</u> /10 ⁻⁶	10 ⁻⁹ mol	10 ⁻⁵
1	330	15.87	2.020	0.780	0.188	0.135	0.3106	9.899	2.04	7.88	8.76	8.85
2	0	24.63										
3	360	18.86	2.640	1.090	0.215	0.148	0.3416	11.879	2.22	9.18	11.98	10.09
4	0	30.84										
5	60	25.43	0.150	0.077	0.204	0.194	0.3676	2.131	0.70	3.66	0.19	(0.89)
6	0	25.62										
7	90	24.64	0.395	0.077	0.206	0.194	0.3690	3.209	1.23	2.40	-	-
8	0	24.60										
9	60	16.60	0.135	0.070	0.192	0.185	0.3521	2.041	0.66	3.43	4.86	23.81
10	0	21.46										
11	46	24.94	0.156	0.072	0.192	0.187	0.3536	1.571	0.99	4.58	-	-

$$\bar{\Phi} = 1.22 \pm 0.60 \quad \bar{\Phi} = 4.73 \pm 2.71 \quad \bar{\Phi} = 15.85 \pm 6.28$$

Tabelle III.1: Berechnung der Quantenausbeuten der Produktbildung (33 und 34) und der Bleichung (von PCBE) mit Hilfe der HPLC. Der Berechnungsweg ist im Text erklärt.
 Spalte 7: A_(577 nm) wurde berechnet aus A_(600 nm) mit A₅₇₇^e/A₆₀₀ = 0.92, da auch die Produkte bei 577 nm absorbieren.
 Spalte 13: Der Wert 0.89 (eingeklammert) wurde bei der Mittelwertbildung nicht berücksichtigt, da dieser eindeutig ein Ausreißer ist (Vergleich der Werte der Proben 5/6 mit 9/10 in Spalten 3, 6 und 7).

Analog dazu ließ sich die Quantenausbeute der Bleichung,

$$\Phi_{bl} = \frac{n_{bl}}{n_{abs}} \quad , \quad \text{III.15}$$

bestimmen, wobei n_{bl} die Anzahl der umgesetzten PCBE-Moleküle ist. Diese konnte man mit der HPLC bestimmen als Differenz von belichteter und unbelichteter Probe (siehe Spalten 3 und 12, Tabelle III.1). Daraus ließ sich Φ_{bl} berechnen (Spalte 13) zu:

$$\Phi_{bl} = (1.6 \pm 0.6) \cdot 10^{-4} \quad .$$

Als Vergleich wurde zur Berechnung der Anzahl der umgesetzten Ausgangsmoleküle noch die UV-VIS-Spektroskopie herangezogen (Tab. III.2).

Tabelle III.2: Berechnung der Quantenausbeute der Bleichung (von PCBE) mit Hilfe der UV-VIS-Spektroskopie.

Spalte 6: $n_{bl} = n_v - n_n$, mit n_v = Menge vor Belichtung und n_n = Menge nach Belichtung.

Spalte 7: Die Werte wurden der Tabelle III.1, Spalte 9 entnommen.

1	2	3	4	5	6	7	8
Pr.	A(600 nm)		Menge in 3 ml/10 ⁻⁹ mol		n_{bl}	n_{abs}	Φ_{bl}
	A_a	A_e	n_v	n_n	10 ⁻⁹ mol	10 ⁻⁹ mol	10 ⁻⁵
1	0.202	0.147	36.43	26.50	9.93	9.899	10.03
3	0.235	0.161	42.39	29.04	13.35	11.879	11.24
5	0.220	0.211	39.68	38.06	1.62	2.131	7.60
7	0.224	0.211	40.40	38.06	2.34	3.209	7.19
9	0.209	0.201	37.69	36.25	1.44	2.041	7.06
11	0.209	0.203	37.69	36.61	1.08	1.571	6.87
13	0.257	0.216	46.35	38.96	7.39	4.534	16.30
15	0.224	0.217	40.40	39.14	1.26	1.617	7.79

$$\bar{\Phi} = 9.26$$

$$\pm 3.25$$

Es wurden zunächst die molaren dekadischen Absorptionskoeffizienten (im folgenden kurz Absorptionskoeffizienten) ϵ von PCBE in Toluol (z.A., über bas. Al_2O_3 chrom.) bestimmt.

$$\epsilon(368 \text{ nm}) = 43100 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

$$\epsilon(600 \text{ nm}) = 16600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

Damit wurden aus der Absorption bei 600 nm vor und nach der Belichtung (Spalten 2 und 3) die entsprechenden Mengen PCBE berechnet (Spalten 4 und 5), deren Differenz n_{bl} liefert (Spalte 6). Mit n_{abs} aus Tabelle III.1 (Spalte 9) läßt sich dann der Mittelwert für die Quantenausbeute der Bleichung berechnen zu:

$$\Phi_{\text{bl}} = (9.3 \pm 3.3) \cdot 10^{-5}.$$

Die Mittelung über beide Tabellen ergibt:

$$\Phi_{\text{bl}} = (1.18 \pm 0.55) \cdot 10^{-4}.$$

Setzt man nun die Quantenausbeuten der Produktbildung und die der Bleichung ins Verhältnis zueinander

$$\frac{\Phi_{33}}{\Phi_{\text{bl}}} = 10\%$$

$$\frac{\Phi_{34}}{\Phi_{\text{bl}}} = 4\%$$

so erhält man innerhalb der Fehlergrenze die gleichen Werte für die Ausbeuten der Produkte, wie sie bei den präparativen Belichtungen beobachtet worden sind (vgl. Kap. III.2.1.2, S. 45).

III.2.1.2. Identifizierung der Photoprodukte

PCBE wurde in sauerstoffarmer Lösung (vgl. S. 37) im präparativen Maßstab ($\approx 15\text{-}20$ mg PCBE pro Ansatz) belichtet mit Licht der Wellenlängen ≥ 590 nm, um die Produkte möglichst wenig mit anzuregen (vgl. Abb. III.12). Bei der dünn-schichtchromatographischen Untersuchung der Belichtungsmischung im Vergleich mit einer luftgesättigten Lösung von PCBE, die längere Zeit (ca. 2-3 d) im Dunkeln gestanden hatte, wurde festgestellt, daß

1. das rote Produkt (33) und die violetten Produkte (34, 35, 36) nur in der belichteten Lösung entstanden waren, und
2. die übrigen beobachteten Produkte (mindestens 20) denen der Vergleichslösung entsprachen, aber im stärkeren Maße (Faktor > 10) gebildet worden waren.

Deshalb wurde die Aufmerksamkeit bei der Untersuchung der Belichtungsprodukte nur auf die unter Punkt 1 erwähnten Substanzen gerichtet. Während Produkt 33 (Ausbeute ca. 11%) gut zu charakterisieren war mit Hilfe der NMR- (a) und MS-Spektroskopie (b), stieß man bei 34, 35 und 36 auf erhebliche Schwierigkeiten. Die Untersuchungen zu ihrer Strukturaufklärung wurden überwiegend mit Produkt 34 durchgeführt, da 35 und 36 Stereoisomere von 34 sind und außerdem in noch geringerer Ausbeute (35: 1.4%/ 36: 1.7%) als 34 (4.7%) entstanden waren. Die Strukturvorschläge für 35 und 36 wurden durch Vergleich der spektroskopischen Daten mit denen von 34 und aufgrund von Modellbetrachtungen gemacht.

a) NMR-Untersuchungen der Produkte

Für die Strukturaufklärung der Produkte mit Hilfe der NMR Spektroskopie reichte die Messung von ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren (BB-DEC = breitbandenkoppelt und DEPT-Spektren⁷⁴) der Substanzen nicht aus, sondern es mußten noch J-korrelierte-2D-NMR-Spektren^{74,75} gemessen werden. Dabei erhielt man aus den ^1H - ^1H -homoskalar-korrelierten (= COSY) Spektren, die für alle untersuchten Produkte gemessen wurden, die Protonensequenzen und aus den ^{13}C - ^1H -heteroskalar-korrelierten die Zuordnung der ^{13}C - zu den ^1H -Resonanzen. Die weitere Zuordnung der Signale erfolgte durch den Vergleich

der Daten mit denen von PCBE (sie wurden unter analogen Bedingungen erhalten, wobei die H(5)-, H(10)- und H(15)-Resonanzen durch NOE-Versuche bestimmt wurden; die Zuordnung der übrigen Protonensignale von PCBE in Pyridin- d_5 ist bereits beschrieben⁷⁶) und teilweise auch mit denen von BVE⁴¹ und anderen Modellsubstanzen⁷⁷.

Untersuchung von Produkt 33

Beim Vergleich des ^1H -NMR-Spektrums von 33 mit dem von PCBE (Abb. III.16, Zuordnung s. Tab. III.3, dabei wurde die Numerierung aus Abb. III.15 übernommen) fiel auf, daß alle Signale der Protonen von Ring A fehlten. Auch das ^{13}C -Spektrum (Abb. III.17) ließ den Schluß zu, daß Ring A abgespalten worden war. Statt dessen wiesen die Protonenverschiebung bei 9.79 ppm und die ^{13}C -Verschiebung eines tertiären Kohlenstoffes (aus DEPT-Spektren) bei 177.95 ppm auf eine Aldehyd-Funktion^{49b} an dieser Stelle (C-5) hin. Durch Aufnahme des heteroskalar-korrelierten 2D-Spektrums konnte diese Beziehung bestätigt werden. Dadurch und durch Vergleich mit den Daten von PCBE und anderen Modellsubstanzen^{41,77} konnten auch alle anderen C-Atome zugeordnet werden (vgl. Tab. III.3), mit Ausnahme der quaternären, nicht doppelt an Heteroatome gebundenen.

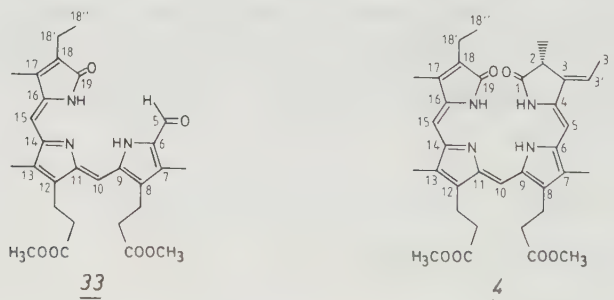


Abb. III.15: Struktur von 33 und PCBE (4). zum Vergleich wurde 33 analog zu PCBE numeriert.

Daraus ergab sich die in Abbildung III.15 dargestellte Struktur für Substanz 33, die durch die massenspektroskopische Untersuchung (S. 62ff) bestätigt wurde. Dieses Tripyrrinon wurde bereits⁷⁸ durch alkalische Oxidation des PCBE-Zinkacetat-Komplexes erhalten. Ähnliche Tripyrrinone wurden sowohl bei Photo- als auch Dunkeloxidationen anderer A-Dihydrobilindione beobachtet⁷⁸.

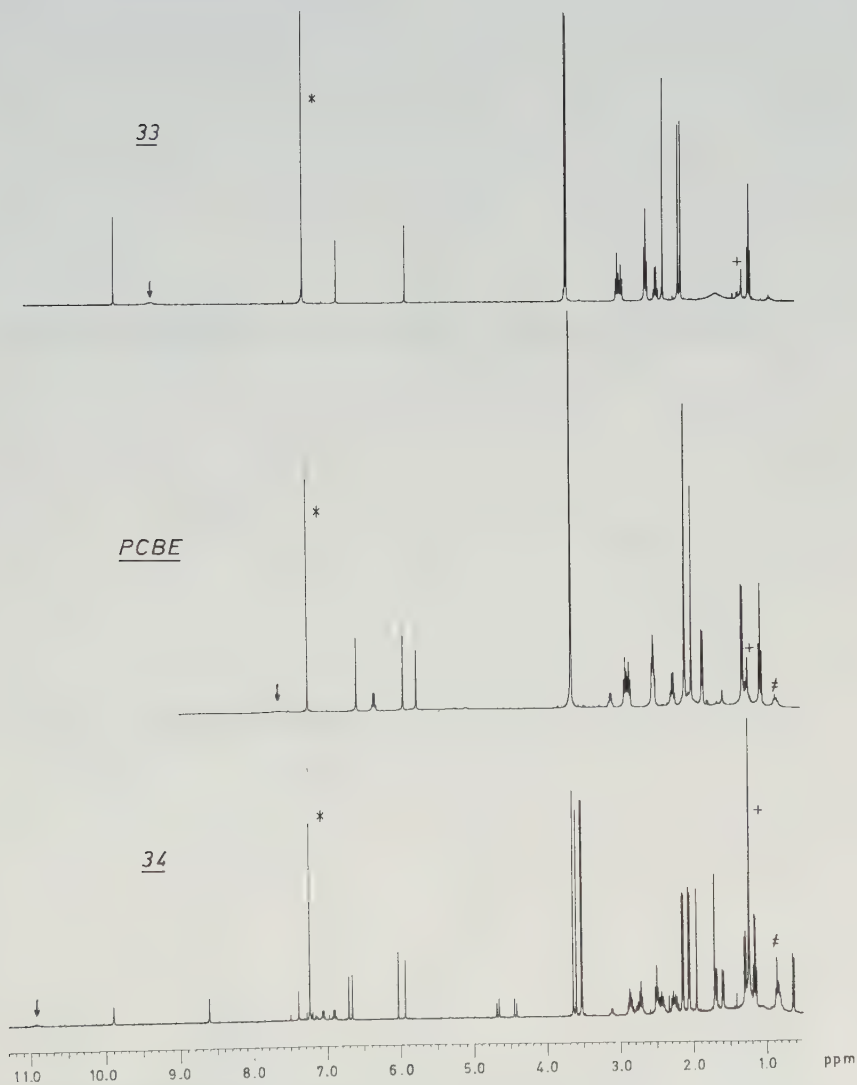


Abb. III.16a: 400 MHz- ^1H -NMR-Spektren von 33 ($4.9 \cdot 10^{-2}$ M), PCBE ($8.1 \cdot 10^{-2}$ M) und 34 ($1.5 \cdot 10^{-2}$ M) in CDCl_3 . Die gekennzeichneten Signale werden hervorgerufen durch: * unvollständig deuteriertes Lösungsmittel, + Lösungsmittelverunreinigung, # Verunreinigung vom Kieselgel (vgl. Reinigung), ↓ breites NH.

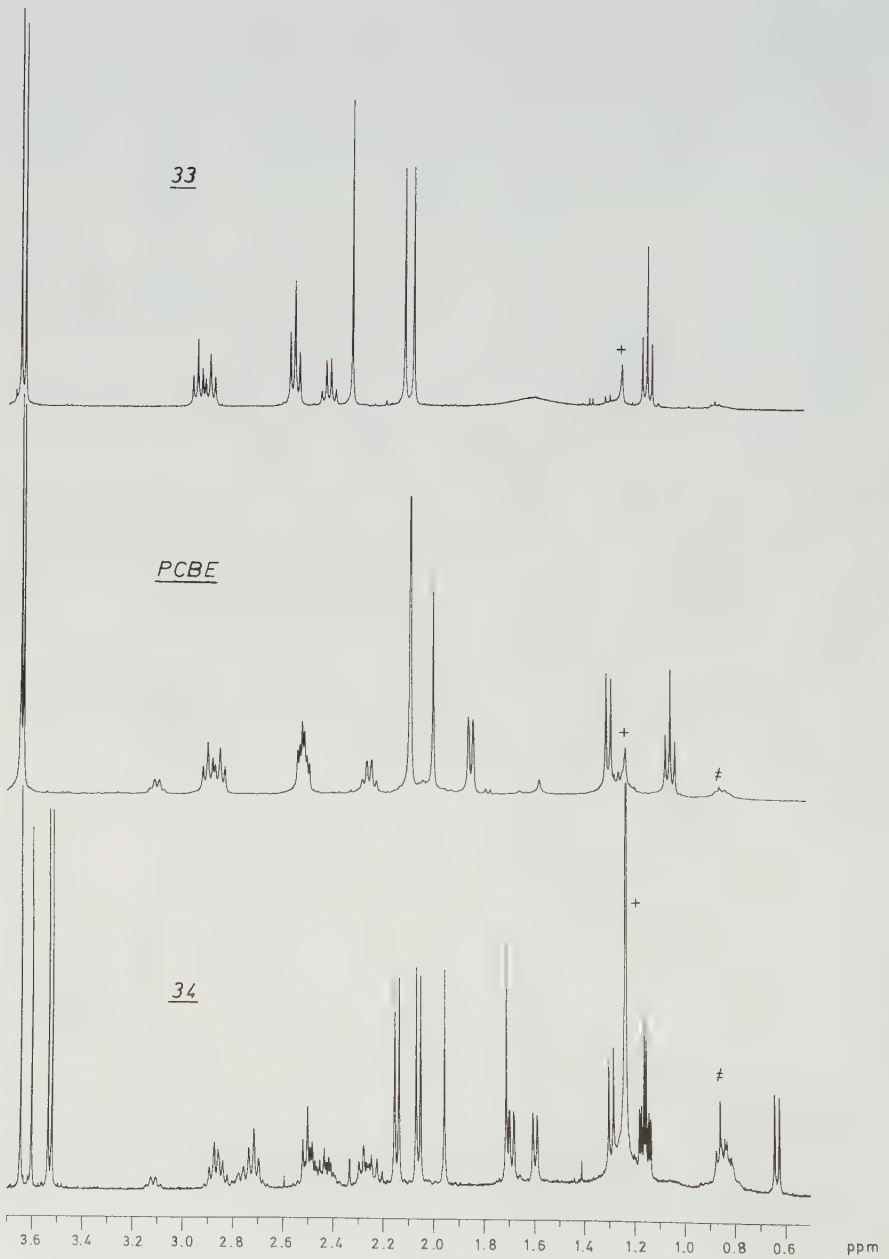


Abb. III.16b: Gespreizter Bereich der Spektren von Abb. III.16a.

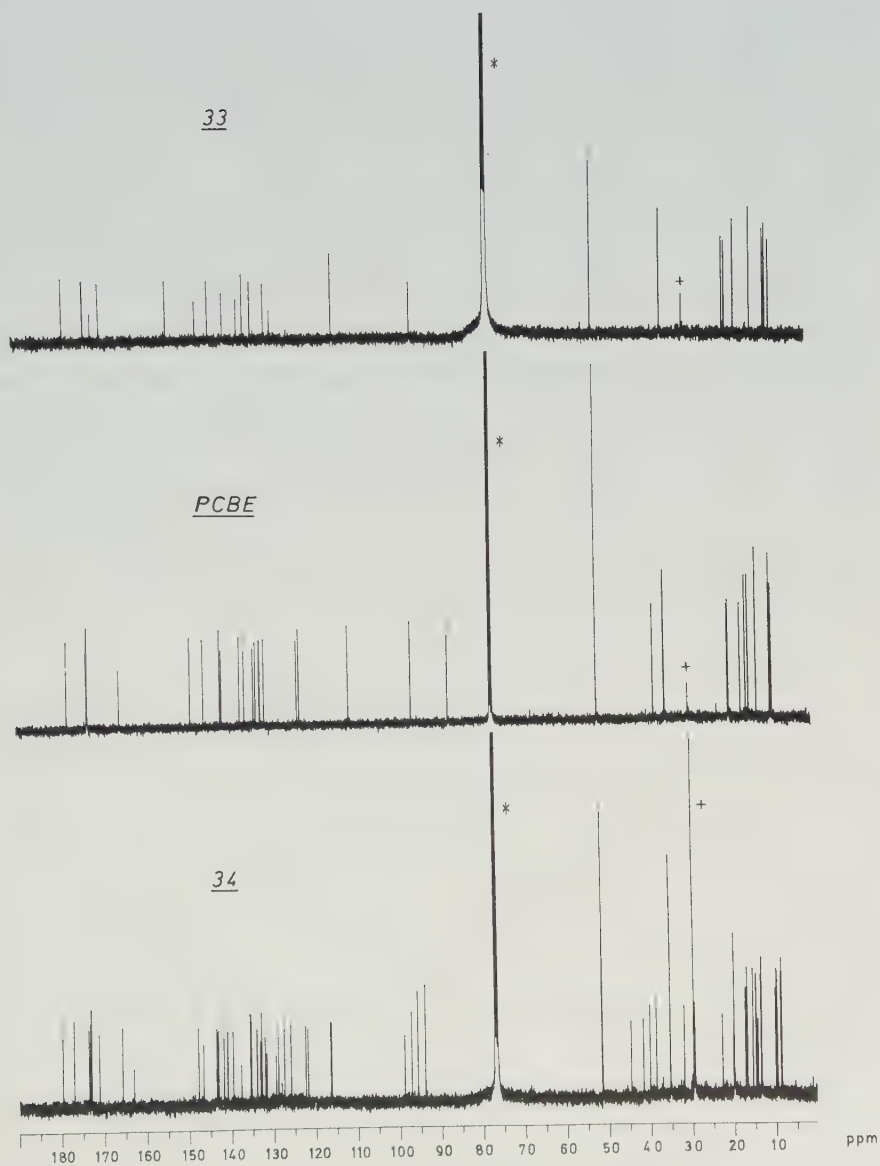


Abb. III.17: 100.6 MHz- ^{13}C -BB-DEC-NMR-Spektren von 33, 34 und PCBE in CDCl_3 (Konzentrationen wie bei ^1H -NMR-Spektren). * Lösungsmittel. + Lösungsmittelverunreinigung.

Untersuchung von Produkt 34

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 34 (Abb. III.16) wies eine Verdoppelung fast aller Signale von PCBE auf, wobei eine teils starke Verschiebung der Signale für die Protonen im Bereich des Ringes A zu beobachten war. Es wurde ein substituiertes Dimer von PCBE in Betracht gezogen, wobei die Molekulargewichtsbestimmung zu $M = 1260$ (vgl. MS-Untersuchung S. 64f) zu dem Schluß führte, daß zusätzlich noch eine O_2 -Addition ($2 \times 614 + 32$) während der Reaktion stattgefunden hatte. Die beiden PCBE-"Monomeren" sind dabei jeweils über die 5-Position miteinander verknüpft, was sowohl durch die Kopplung der beiden C(5)-Protonen als auch durch das massenspektroskopische Fragmentierungsverhalten (b) bewiesen werden konnte. Als Verknüpfungspunkt für O_2 kommt nur der Bereich von Ring A (genau C(4): ähnliches Kopplungsverhalten in Ring A wie bei PCBE) in Frage wegen der teils starken Verschiebung der Signallagen gegenüber dem Ausgangsmaterial, was an anderer Stelle im Molekül nicht beobachtet wurde. Dieses konnte ebenfalls durch das Fragmentierungsverhalten bei der MS-Untersuchung bestätigt werden, die zusätzlich den Beweis lieferte, daß der addierte Sauerstoff in der Peroxid-Form vorlag.

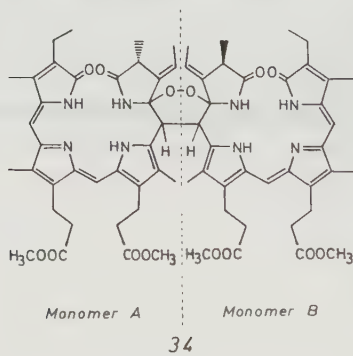


Abb. III.18: Konstitution von 34, zur besseren Betrachtung wurde sie formal in zwei Hälften (Monomer A, Monomer B) unterteilt.

Somit ergibt sich als Struktur von 34 ein O_2 -Addukt an zwei PCBE-Moleküle, wobei C(4), C(5), C'(5), C'(4) sowie O_2 einen Sechsring bilden (vgl. Abb. III.18) - ein Dimer (entstanden bei anaerober Photooxidation von A-Dihydrobilindionen mit Jod) mit Verknüpfung über einen Cyclobutanring aus C(5), C(4), C'(4), C'(5) wurde bereits vorgeschlagen⁷⁸.

Tabelle III.3

Position	Produkt 33			PCBE (E)			Produkt 34			Produkt 35			Produkt 36					
	¹³ C	¹³ C	¹³ C	¹³ C	¹³ C	¹³ C	Monomer A	¹³ C	Monomer B	¹³ C	Monomer A	¹³ C	Monomer B	¹³ C	Monomer A	¹³ C	Monomer B	
2 CH ₃				15,57 q	1,32 d	(8.0)	0.64 ^d	15,32 q	16,67 q	1,29 d	(7.5)	1,29 ^d	1,38 d	(7.2)	0.54 d	(7.6)	1,25 d	(8.0)
3 -CH				37,62 d	3,14 dq	(2.0)	3,11 ^d	38,63 d	38,63 d	2,77 dq	(2.0)	2,82 ^d	2,87 s		3,03 s	3,13 s	2,8-3.1 s	
3' -CH				127,87 d	6,38 dq	(2.0)	7,09 ^d	128,97 d	128,97 d	6,90 dq	(2.0)	6,91 m	6,91 m		6,91 dq	(2.0)	7,14 dq	(2.0)
3' -CH				14,89 s	1,88 s	(7.6)	1,60 ^d	14,54 q	14,54 q	1,69 d	(6.8)	1,66 d	1,69 d	(7.2)	1,69 d	(7.0)	1,62 d	(8.0)
3' -CH				9,64 d	2,02 s		1,72 s	8,36 q	8,59 q	1,98 s		1,69 s	1,94 s		1,75 s	1,97 s	2,04 s	
3' -CH				2,31 s			2,13 s	9,46 q	9,60 q	2,18 s		2,14 s	2,15 s		2,14 s	2,15 s	2,12 s	
13 -CH ₃				2,37 s			2,05 s	9,46 q	9,60 q	2,08 s		2,05 s	2,07 s		2,07 s	2,07 s	2,07 s	
18 -CH ₃				12,99 s			1,67 ^d	13,19 q	13,23 q	1,15 s	(7.5)	1,16 s	1,15 s	(7.6)	1,17 s	(8.0)	1,03 t	(7.0)
18 -CH ₃				17,13 t	16,81 t	2,30 q	(8.0)	1,48 ^d	17,10 t	17,00 t	2,27 q	2,27 ^d	2,27 t		2,27 t	2,27 t	2,24-2.7 m	
α H ₂				15,53 t			2,49 ^d	15,10 t	15,29 t	2,24 m		2,50 ^d	2,53 t		2,52 s	2,52 s	2,4-2.7 m	
α H ₂				18,25 t			2,49 ^d	18,41 t	18,82 t	2,72 m		2,71 ^d	2,71 t		2,65 ^d	2,81 m	2,8-3.1 s	
β CH ₂				2,94 t			2,86 ^d	20,61 t	20,57 q	1,34 s		3,55 s	3,56 s		3,53 s	3,53 s	3,68 s	
γ CH ₂				1,84 s			1,53 s	51,57 s	51,57 s	1,34 s		3,65 s	3,65 s		3,63 s	3,69 s	3,93 s	
δ CH ₂				1,79 s			1,61 s	51,66 q	51,68 q	3,68 s		3,65 s	4,59 d	(12.6)	4,57 d	(13.1)	5,93 s	
ε CH				11,33 dq			6,84 s	116,13 d	116,57 d	6,69 s		6,68 s	6,76 s		6,78 s	6,78 s	6,00 s	
15 CH				35,18 t			5,94 s	97,18 d	98,85 d	6,03 s		5,95 s	6,03 s		5,94 s	6,04 s	6,00 s	
Wh				9,33 br	(26.1)					7,42 s			7,42 s					
				11,38 br	(25.5)					8,34 s			8,34 s					
										9,92 s			10,05 s					
										11,07 br			11,07 br					
										10,02 br	(24.3)		9,97 br	(26.3)				
										10,42 br	(24.3)		10,32 br	(22.3)				

Tabelle III.3: NMR Daten (in CDCl₃ gemessen) der Produkte 33, 34, 35 und 36 im Vergleich mit Daten des E- und des Z-Isomeren von PCBE; dabei wurden die des Z-Isomeren Lit. 70 entnommen, wobei die mit $\pm$ gekennzeichneten Daten austauschbar sind. Die Zuordnung erfolgte wie im Text beschrieben. Die mit o, *, +, - bezeichneten Sätze von Daten wurden durch direkte Kopplung (2J) bestimmt, der mit * bezeichnete zusätzlich durch Fernkopplungen (3J). Die mit *, +, - versehenen Daten können satzweise von einem Monomer zum anderen zusammen mit ihren ¹³C-Daten ausgetauscht werden. Die anderen können beliebig ausgetauscht werden, aber ebenfalls nur mit ihren ¹³C-Werten. Auch die Daten der quaternären C-Atome können beliebig zwischen den beiden Monomeren ausgetauscht werden. Die ¹³C-Werte sind vergleichbar mit denen von BVE-IXa¹²⁵, außer an der Verknüpfungsstelle und Ring A. Bei den NH-Werten sind in Klammern die Temperaturen (in Kelvin) angegeben, bei denen sie erstmalig beobachtet werden konnten; keine Angabe bedeutet Raumtemperatur. Den mit † gekennzeichneten Wert erhielt man durch Messung in CD₂Cl₂, wobei sich das Signal nach 7.02 ppm verschob. Alle NH-Signale verschwanden beim Schütteln mit D₂O.

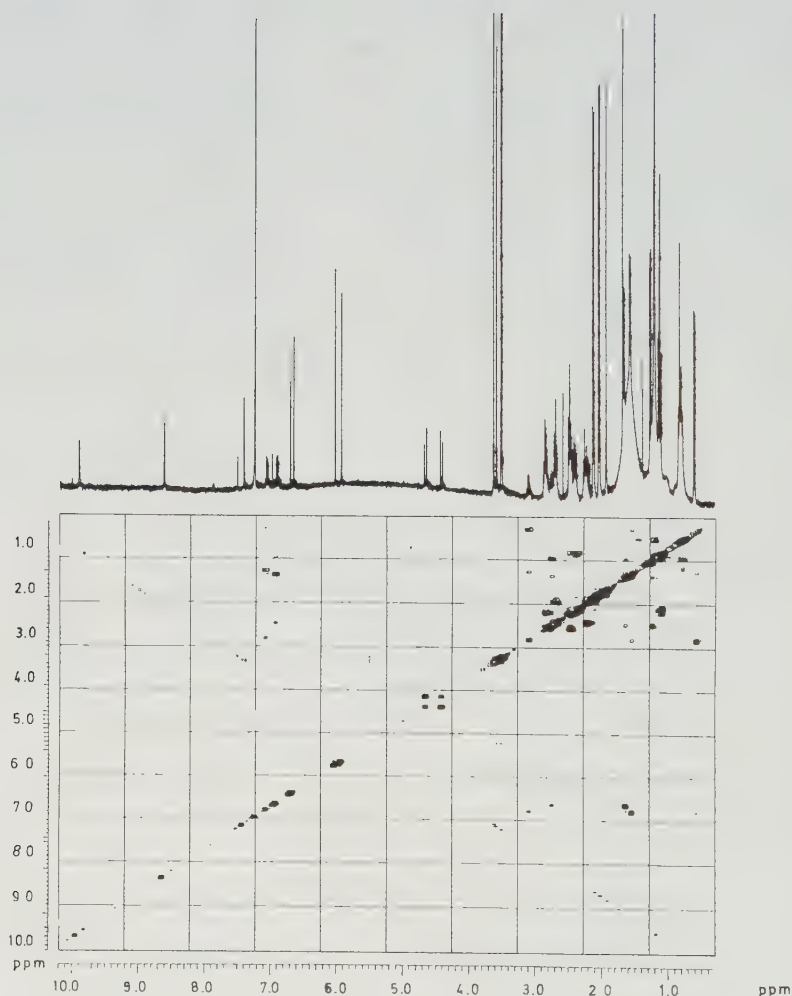
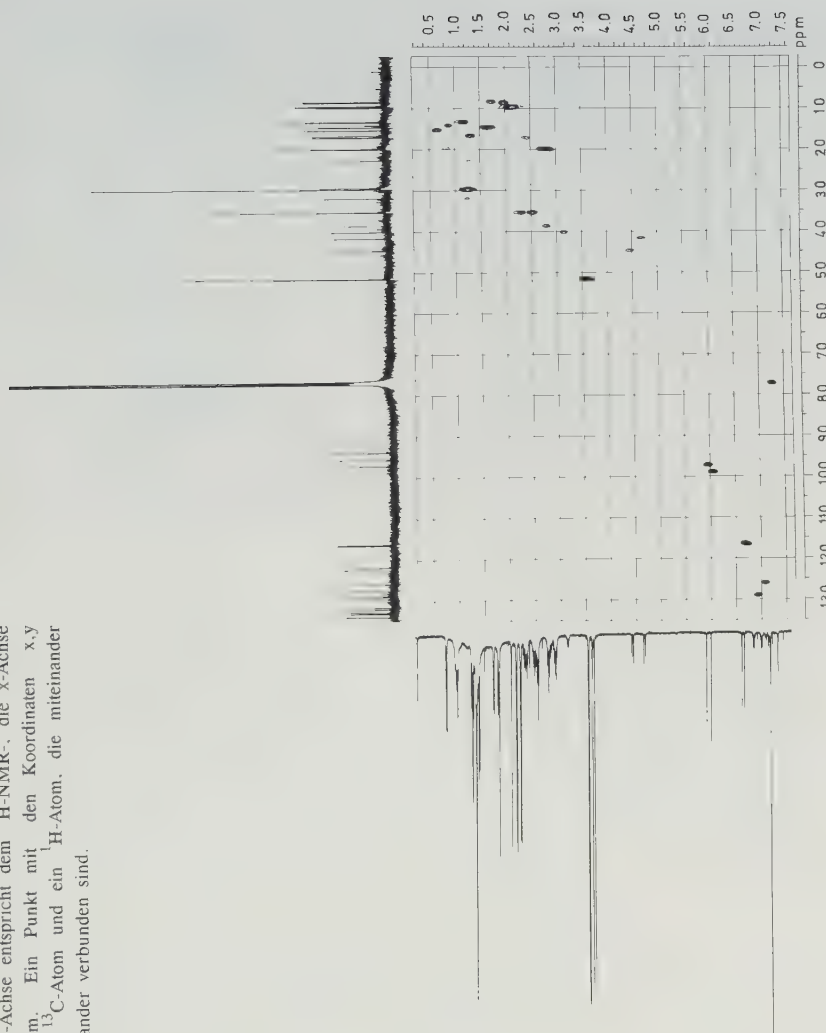


Abb. III.19: 400 MHz-COSY-2D-NMR Spektrum von **34** in CDCl_3 ($1.5 \cdot 10^{-2}$ M), entgast und abgeschmolzen. Beide Achsen entsprechen dem ^1H -NMR-Spektrum der Substanz. Punkte (Koordinaten: x, y) mit $x = y$ liegen auf der Diagonalen, die auch das ^1H -NMR wiedergibt und das Diagramm in zwei Hälften teilt. Punkte mit $x_1 \neq y_1$ gehen dann die beiden Kopplungspartner an, wenn auch ein Punkt mit $x_2 \neq y_2$ (mit $x_1 = y_2, x_2 = y_1$) in der anderen Hälfte des Diagramms zu finden ist.

Abb. III.20: ^{13}C - ^1H -heteroskalar-korreliertes NMR-Spektrum von **34** ($1.5 \cdot 10^{-2}$ M) in CDCl_3 . 125 Einzelmessungen á 2000 Scans ($\rightarrow$ Meßdauer: 17 Tage). Die y-Achse entspricht dem ^1H -NMR-, die x-Achse dem ^{13}C -NMR-Spektrum. Ein Punkt mit den Koordinaten x,y kennzeichnet somit ein ^{13}C -Atom und ein ^1H -Atom, die miteinander koppeln, d.h. die miteinander verbunden sind.



Die Zuordnung der chemischen Verschiebung zu den einzelnen Protonen bzw. C-Atomen des Moleküls, das dafür formal in zwei Hälften (Monomer A und Monomer B) unterteilt wurde, erfolgte durch den Vergleich mit PCBE-Daten (Tab. III.3).

Die Protonensequenzen wurden aus dem COSY-(^1H - ^1H homoskalar-korreliert) 2D-NMR-Spektrum (Abb. III.19) ermittelt, die C-H-Paare aus dem in Abbildung III.20 gezeigten heteroskalar-korrelierten Spektrum. Von den quaternären C-Atomen wurde nur für die doppelt an Heteroatome gebundenen eine Zuordnung durch Vergleich mit PCBE- und BVE⁴¹-Daten versucht, sowie für C(4), die Bindungsstelle zum Peroxid (Tab. III.3).

Die Singulets bei 7.42, 8.61 und 9.92 ppm, sowie das breite Signal bei 11.07 ppm konnten vier NH-Protonen (H-D-Austausch durch Zugabe von D_2O) zugeordnet werden. Die noch fehlenden zwei erschienen bei Aufnahme der Spektren bei tieferen Temperaturen (243 K). Der Protonenaustausch zwischen den Stickstoffen läuft also nicht mehr so leicht ab wie im PCBE, das ein breites Signal im Bereich von 7.5-9.0 ppm für 1-2 NH-Protonen bei RT zeigte.

Die Kopplungskonstante zwischen den beiden C(5)-Protonen ($^3J_{5(A),5(B)} = 13.6 \text{ Hz}$) entspricht nach der Karplus-Beziehung^{49c} einem Torsionswinkel von 160 - 180° oder 0 - 15° , wobei letzterer wegen der sehr großen sterischen Hinderung ausgeschlossen werden kann. Daraus folgt, daß der Sechsring in der Sesselkonformation mit diaxialer Anordnung der beiden Wasserstoffe ($^3J_{a,a} \approx 10$ - 13 Hz ^{49c}) vorliegt. Dieses ist die thermodynamisch stabilste Form für substituierte Sechsringe⁷⁹, da sich die sterisch anspruchsvollen Ringe B in der energetisch günstigen, äquatorialen Position befinden.

Aufgrund dieser vorgegebenen Stereochemie reduziert sich die Anzahl der theoretisch möglichen Stereoisomeren von 16 (4 neue Chiralitätszentren) auf 8 und wegen Degeneration (die Stereoisomeren a_1 und b_1 entsprechen jeweils 2 theoretisch möglichen Isomeren) auf 6, die in Abb. III.21 zur besseren Übersicht ohne Ringe C und D dargestellt sind. Diese Stereoisomeren sind ferner in Abbildung III.22 zur besseren Interpretation der NMR-Spektren in der Sesselkonformation wiedergegeben, wobei (bis auf Struktur a_1) nur die Bindungen zu den Ringen B eingezeichnet wurden. Die Strukturtypen a und b unterscheiden sich durch die relative Konfiguration der C(5)-Wasserstoffe zu den C(2)-Methylgruppen, so daß sie sich bei Vernachlässigung der Stereochemie an C(2) wie Bild und

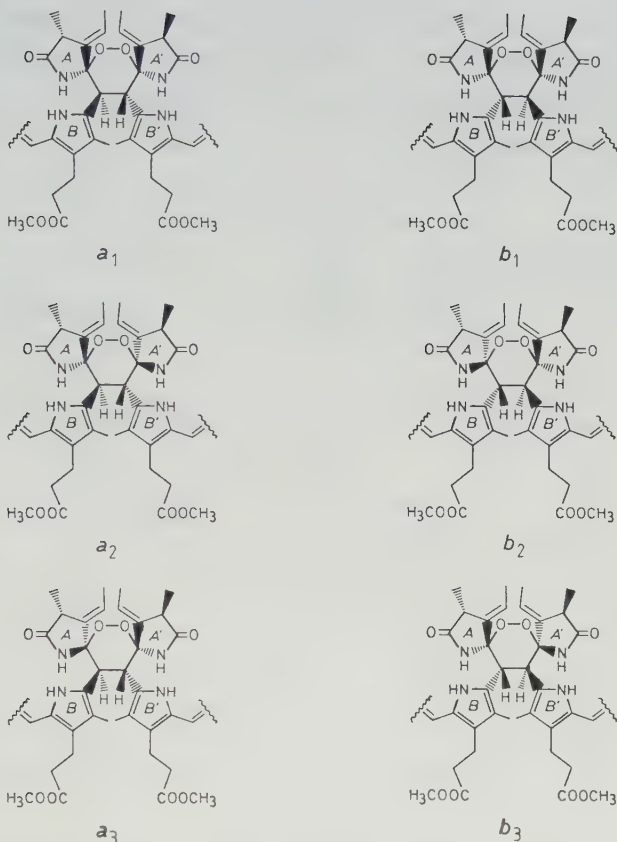


Abb. III.21: Mögliche Stereoisomere für die Substanzen 34, 35 und 36.

Spiegelbild verhalten.

Betrachtet man die Isomeren a_1 und b_1 , so fällt auf, daß bei beiden Strukturen jeweils eine C(2)-Methylgruppe in den Einflußbereich des Ringes B in der Art kommt (vgl. a_1 in Abb. III.22), daß sie im 1H -NMR durch den Ringstrom-Effekt^{49d} eine Hochfeldverschiebung erfahren müßte, während die andere C(2)-Methylgruppe sich in der "normalen" Umgebung befindet und somit im 1H -NMR bei einer ähnlichen Frequenz absorbieren sollte wie beim PCBE.

Das 1H NMR-Spektrum zeigte für die eine C(2)-Methylgruppe die chemische Verschiebung $\delta = 0.64$ ppm (hochfeldverschoben gegenüber PCBE) und für die andere die chemische

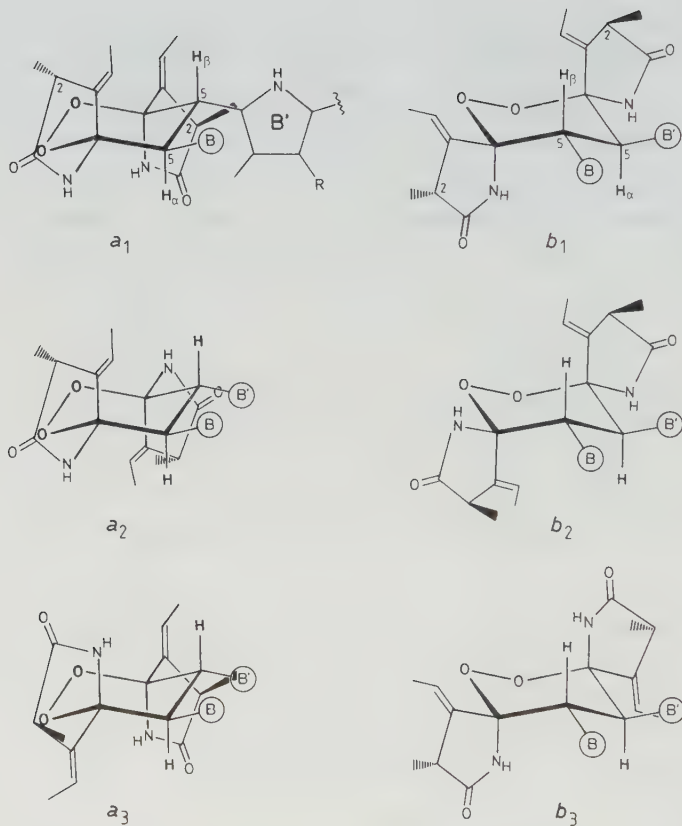


Abb. III.22: Stereoisomere aus Abb. III.21, dargestellt in der Sesselkonformation: $R = -C_2H_4COOCH_3$.

Verschiebung $\delta = 1.29$ ppm (PCBE: $\delta = 1.32$ ppm). Es wurde deshalb vermutet, daß die Substanz die Stereochemie von a_1 bzw. b_1 besitzt. Einen weiteren Hinweis darauf erhielt man aus der Messung von Kern-Overhauser-Effekten (NOE)⁸⁰, die die räumliche Nähe zwischen Protonen dokumentieren. Es wurden Effekte zwischen einem C(5)-Proton (4.43 ppm) und zwei NH-Protonen (7.42 und 8.61 ppm), sowie zwischen dem anderen C(5)-Proton (4.68 ppm) und beiden C(3') Protonen (6.90 und 7.09 ppm) beobachtet. Das C(5) Proton mit $\delta = 4.43$ ppm könnte dabei dem H_α von Struktur a_1 bzw. b_1 und das bei $\delta = 4.68$ ppm dem H_β dieser Strukturen entsprechen. Aufgrund der vorliegenden Daten kann nicht zwischen Typ a und Typ b unterschieden werden.

Es gibt jedoch Hinweise auf die bevorzugte oder vielleicht sogar ausschließliche Bildung von Typ a, die sich aus dem Reaktionsmechanismus (Kap. III.2.1.3) im Zusammenhang mit der beobachteten, diaxialen Anordnung der C(5)-Wasserstoffe ergeben.

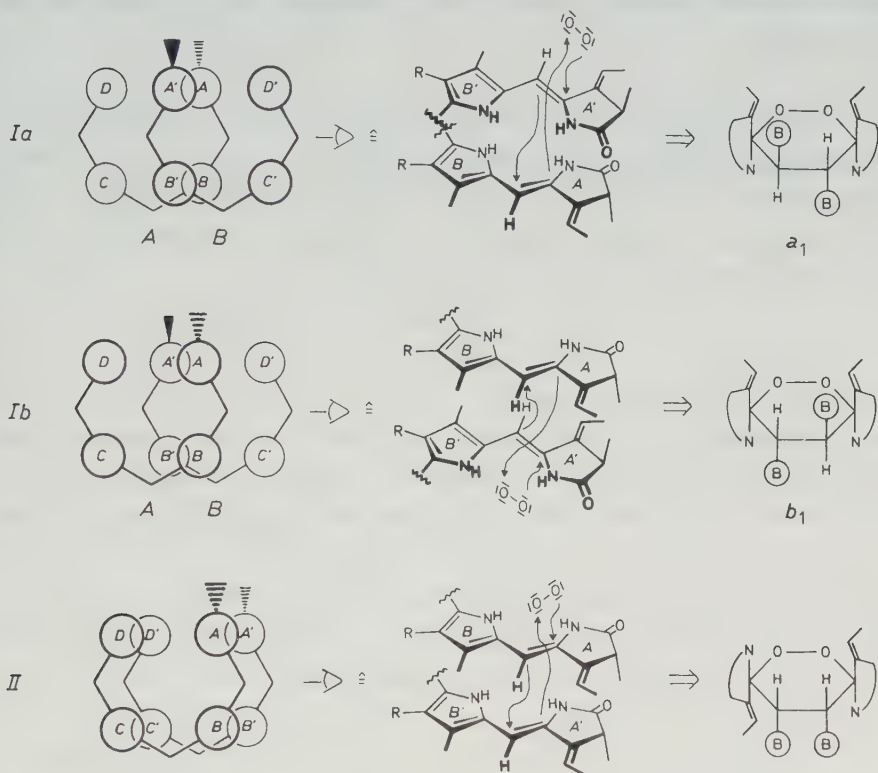


Abb. III.23: Mögliche Anordnungen der PCBE-Moleküle A und B während der Photooxidation; $\text{R} = -\text{C}_2\text{H}_4\text{COOCH}_3$.

Um die trans-Stereochemie der H-Atome zu erhalten, müssen die Monomeren A und B während der Photooxidation in der in Abbildung III.23 gezeigten Weise (I) assoziiert sein, da der umgekehrte Fall (II) immer zu einem Sechsring mit cis-Geometrie (a.e bzw. e.a) der C(5) Wasserstoffe führt, der aber nicht beobachtet worden ist. Anordnung Ia, bei der Monomer B oberhalb von Monomer A liegt, führt bei der Reaktion zu Produkten des Strukturtyps a. Anordnung Ib zu Strukturtyp b. Vergleicht man diese Anordnungen, so

stellt man bei 1b eine sehr große sterische Hinderung der beiden C(2)-Methylgruppen fest, was zu einer Bevorzugung der energetisch günstigeren Anordnung 1a führen sollte. Somit sollte auch die Bildung von Strukturtyp a gegenüber Typ b bevorzugt sein oder sogar ausschließlich stattfinden. Aufgrund dieser Überlegungen lautet der Strukturvorschlag für Substanz 34 : a₁.

Die eindeutige Klärung der Frage nach der relativen Konfiguration aller neu gebildeten Chiralitätszentren (was gleichzeitig der absoluten Konfiguration entspricht, da die Stereochemie an C(2) bekannt ist) ist nur durch eine Röntgenstrukturanalyse möglich. Diese konnte jedoch nicht durchgeführt werden, da es nicht gelang, einen Einkristall von der Substanz herzustellen.

Untersuchung der Produkte 35 und 36

Die ¹H-NMR-Spektren der Substanzen 35 und 36 (Abb. III.24) zeigten eine sehr große Ähnlichkeit zu dem von Substanz 34. Da auch die Zuordnung der chemischen Verschiebungen (durch Vergleich mit PCBE) sowie die der Protonensequenzen durch Aufnahme der COSY-Spektren zu ähnlichen Ergebnissen führte (vgl. Tab. III.3), wurde angenommen, daß 35 und 36 Stereoisomere von 34 sind und somit ebenfalls die in Abbildung III.18 dargestellte Konstitution besitzen. Die identischen Molekulargewichte aller drei Substanzen sowie das gleiche massenspektroskopische Fragmentierungsverhalten (b) stützen diese Annahme.

Bei Substanz 36 lagen die ¹H-Verschiebungen für beide C(2)-Methylgruppen bei $\delta = 0.54$ ppm, bei Substanz 35 jedoch bei $\delta = 1.29$ und 1.38 ppm. Vergleicht man diese Werte mit denen von 34, so könnte man der Substanz 36 die Struktur a₃ oder b₂ (vgl. Abb. III.22) zuordnen, da sich dort beide C(2)-Methylgruppen in dem Einflußbereich des Ringes B befinden und hochfeldverschoben werden (s.o.). Der Substanz 35 könnte man entsprechend die Struktur a₂ oder b₃ zuordnen, da sich dort die beiden betrachteten Gruppen außerhalb dieses Einflußbereichs befinden, also eine ähnliche Umgebung haben wie im PCBE (vgl. Tab. III.3). Ein weiterer Hinweis für diese Strukturzuordnungen (34: a₁, b₁; 35: a₂, b₃; 36: a₃, b₂) ergibt sich bei dem Vergleich des theoretischen (2:1:1 für Typ a und Typ b, vgl. S. 55) mit dem beobachteten (3:1:1.3) Bildungsverhältnis dieser

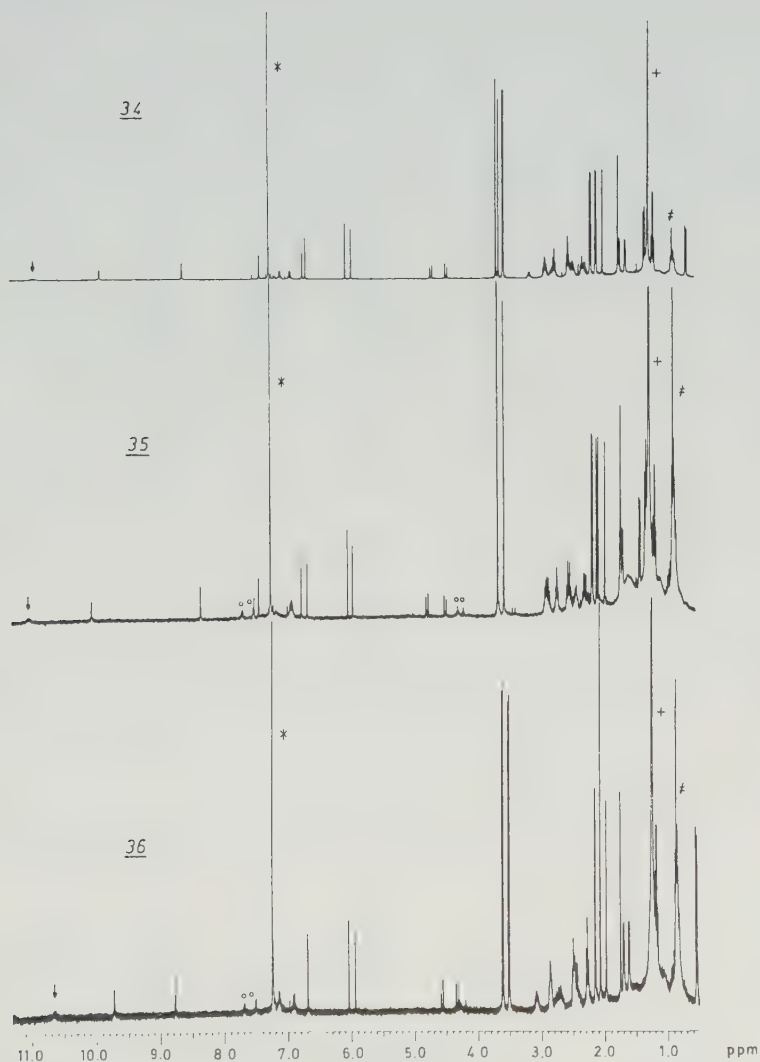


Abb. III.24a: ^1H -NMR-Spektren der Substanzen 35 ($7.5 \cdot 10^{-3}$ M) und 36 ($8.9 \cdot 10^{-3}$ M) in CDCl_3 , das von 34 als Vergleich dazu. * Lösungsmittel, + Lösungsmittelverunreinigung, $\neq$ Verunreinigung vom Kieselgel, o andere Verunreinigung, $\downarrow$ breites NH.

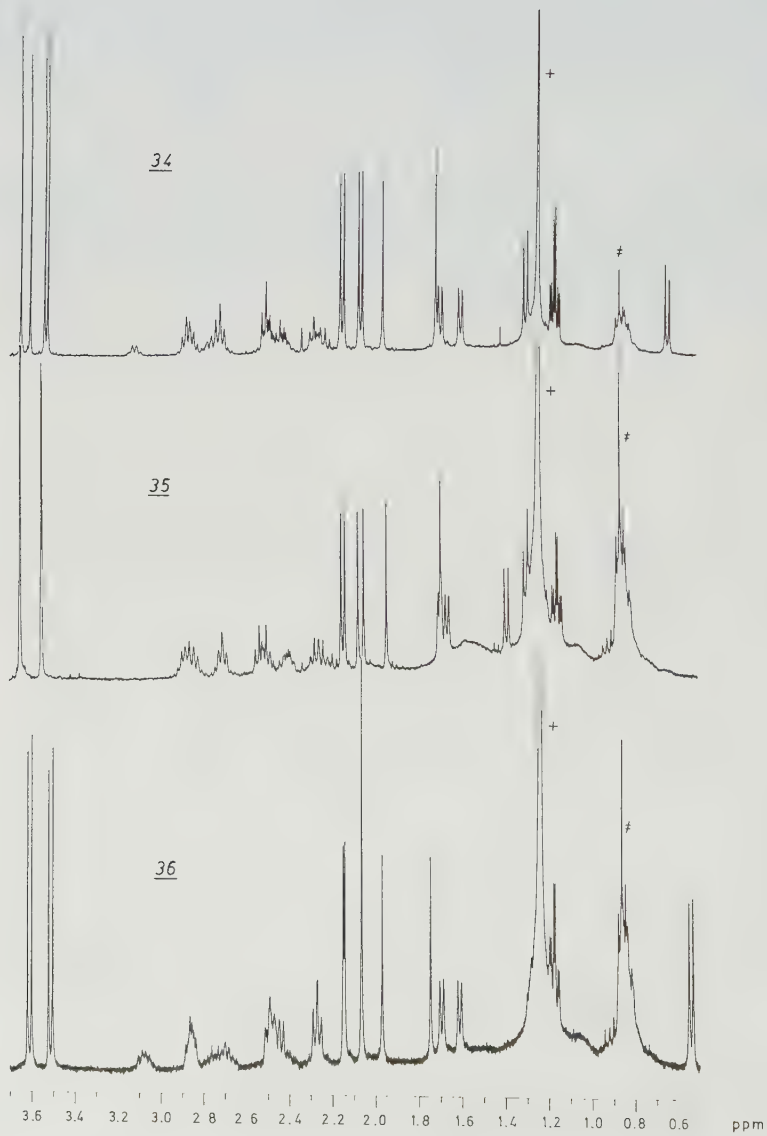


Abb. III.24b: Gespreizter Bereich der Spektren von Abb. III.24a.

Isomeren, die ausreichend übereinstimmen.

Es ergibt sich aber ein großer Widerspruch:

Die Strukturen a_2 , a_3 , b_2 und b_3 besitzen C_2 -Symmetrie⁸¹, wobei die C_2 -Drehachse durch die Bindungen C(5,A)-C(5,B) und O-O verläuft. Dies bedeutet, daß beide Molekülhälften, also Monomer A und Monomer B, identisch sind und somit alle Protonen von Monomer A im ^1H -NMR mit denen von Monomer B zusammenfallen - das gleiche gilt für die ^{13}C -Atome -, so daß man nur ein Tetrapyrrol-System beobachten könnte.

Dieser Widerspruch läßt sich beseitigen, wenn man berücksichtigt, daß bei der Belichtung nicht nur die Produkte 33 - 36 gebildet worden sind, sondern auch eine E $\rightarrow$ Z-Isomerisierung der 3,3'-Doppelbindung des PCBE-Moleküls stattgefunden hat (vgl. Kap. III.2.1.2 und Lit. 68). Die Quantenausbeute dieser E $\rightarrow$ Z-Isomerisierung ist offensichtlich größer als die der Bildung von 33, 34, 35 und 36, da das gebildete Z-Isomer zu mindestens 50% im rückisolierten PCBE vorhanden ist. Daraus kann man schließen, daß während der 17stündigen Belichtung auch schon in der Lösung ein E,Z-Gemisch vorliegt. Demzufolge können die Dimere 34, 35 und 36 aus E- und Z-Monomeren aufgebaut sein, wobei die Wahrscheinlichkeit für die Bildung eines "gemischten" Dimers - ein E- und ein Z-Monomer - am größten ist. Mit dieser Annahme läßt sich die beobachtete "Verdoppelung" der NMR-Signale bei den Substanzen 35 und 36 gut erklären, da nun (für a_2 , a_3 , b_2 und b_3) keine Äquivalenz mehr zwischen Monomer A und Monomer B besteht.

Dieses (E,Z-Gemisch) trifft auch für Substanz 34 zu, bei deren Strukturvorschlag a_1 (b_1) ohnehin schon eine Nicht-Äquivalenz der beiden Monomeren vorlag.

Wie für Substanz 34 läßt sich auch für 35 und 36 eine bevorzugte bzw. ausschließliche Bildung des Strukturtyps a aus den bereits erläuterten Gründen (S. 57f) vermuten. Somit lauten die Strukturvorschläge für Substanz 35: a_2 , und für Substanz 36: a_3 . Die eindeutige Aufklärung der Stereochemie ist nur durch eine Röntgenstrukturanalyse möglich, die sich jedoch aus den gleichen Gründen wie bei Substanz 34 nicht durchführen ließ.

b) MS-Untersuchungen der Produkte

Die Massenspektroskopie wurde zur Bestimmung der Molekulargewichte der Belichtungsprodukte herangezogen. Bei dem Versuch der osmotrischen Bestimmung führte die Zersetzung der Substanz zu falschen Ergebnissen; andere Methoden konnten wegen des hohen Substanzbedarfs nicht benutzt werden. Während die Anwendung der Massenspektroskopie bei Substanz 33 ohne Probleme möglich war, ergaben sich bei Produkt 34 große Schwierigkeiten aufgrund seiner thermischen Instabilität.

Untersuchung von Produkt 33

Das Massenspektrum (vgl. Abb. III.25) der Elektronenstoß-Ionisation mit einer Verdampfungstemperatur von 230 °C zeigte als Molekulargewicht die Masse $m/e = 507$, was mit der für die ermittelte Struktur (vgl. NMR-Untersuchung) berechneten Masse (507,24) übereinstimmt.

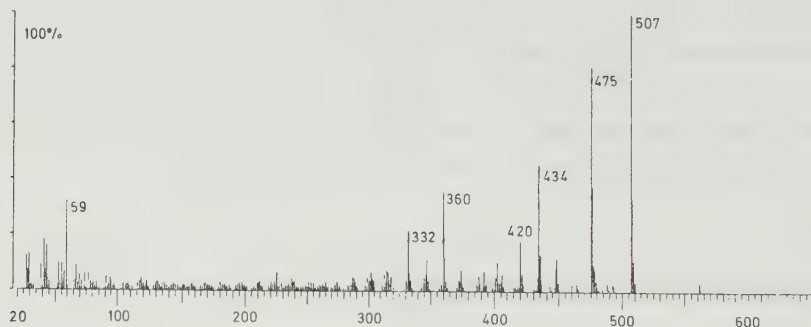


Abb. III.25: EI-Massenspektrum von 33, Verdampfungstemperatur 230 °C, Ionisierungsenergie 70 eV.

Die Fragment-Ionen können durch die Abspaltung der Propionsäuregruppen und einer Methylgruppe in Analogie zum vorgeschlagenen Fragmentierungsverhalten von PCBE⁵² erklärt werden (vgl. Tab. III.4 und Abb. III.26).

Zur Überprüfung des Molekulargewichts wurde zusätzlich die "Fast-Atom-Bombardment"-Massenspektroskopie⁸² (FAB-MS) herangezogen. Dabei wird die Substanz in einer schwer verdampfenden Flüssigkeit gelöst, auf eine kleine Metallplatte aufgetragen und nach Einbringen in die Ionenquelle mit neutralen Edelgasatomen beschossen. Die dadurch ent-

Tabelle III.4: Die Daten für PCBE sind Literatur 52 entnommen, die prozentuellen Angaben geben die relative Peakintensität wieder, die Strukturen I-V sind in Abb. III.26 wiedergegeben.

%	33	vermutliches Fragment-Ion	PCBE	%
100	507	M^+	614	100
5	492	$M^+ - CH_3$	599	97
10	478	$M^+ - CHO$	-	-
-	-	$M^+ - OCH_3$	583	12
81	475	$M^+ - CH_4O$	-	-
12	448	$M^+ - COOCH_3$	555	5
45	434	$M^+ - CH_2COOCH_3$	541	12
18	420	$M^+ - CH_2CH_2COOCH_3$	527	24
36	360	$M^+ - CH_3, - CH_2COOCH_3$	-	-
12	346	$M^+ - CH_3, - CH_2CH_2COOCH_3$	512	5
-	-	$M^+ - CH_2CH_2COOCH_3, - COOCH_3, - H$	467	8
22	332	$M^+ - CH_3, - CH_2COOCH_3$	-	-
-	-	$M^+ - CH_2CH_2COOCH_3$	454	7
-	-	$M^+ - CH_2COOCH_3$	436	6
-	-	$M^+ - 2x CH_2CH_2COOCH_3$	315/313	35
-	-	I, II	302/300	62
-	-	III, IV	243/241	30
-	-	(I, II) - CH_2COOCH_3	229/227	40
-	-	(III, IV) - CH_2COOCH_3	-	-
7	225	IV - $CH_2COOCH_3, - 2H$	123	16
-	-	V	-	-
32	59	$C_2H_3O_2^+$	-	-

stehenden Sekundärionen werden dann im Massenspektrometer registriert. Der Erfolg dieser Methode hängt hauptsächlich von der Löslichkeit der zu untersuchenden Substanz in der Matrix ab. Ein für die Belichtungsprodukte geeignetes Lösungsmittel ist der schon zur Messung anderer Tetrapyrrolysysteme⁸³ benutzte 2-Nitrophenyl-octylether, der wegen seines niedrigen Dampfdruckes ($KP_{11} = 197-198^\circ C$) auch eine sehr gute Matrix für FAB darstellt. Positiv geladene Molekülionen entstehen bei der FAB-MS meistens durch Protonen- oder Alkaliionen-Anlagerung (z.B. H^+ -Anlagerung mit Glycerin als Matrix oder Na^+ -An-

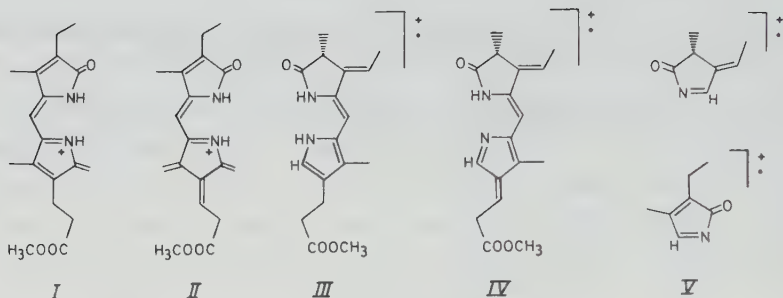


Abb. III.26: Vermutliche Strukturen⁵² (entstanden durch H-Wanderungen) der Dipyrrolylfragment-Ionen von PCBE, die Ringe A und D sind aufgrund ihrer identischen Massen bei allen Strukturen austauschbar.

lagerung mit der Matrix Glycerin vermischt mit NaI), wogegen radikalische Molekülionen ($M^{\cdot+}$) nur selten beobachtet werden⁸². Da hier aber das als Matrix verwendete Lösungsmittel kein Protonendonator ist und die zu untersuchende Substanz eher protonenarm ist, kann man davon ausgehen, daß doch bevorzugt Radikalkationen des Moleküls gebildet werden. Zusätzlich kann es auch zu Oxidationen durch das Lösungsmittel kommen, was zu $[M+16]^+$ - und $[M-2H]^+$ -Signalen führen kann.

Das Massenspektrum, das durch Beschuß der substanzhaltigen Matrix mit Argon-Atomen erhalten wurde, wies ein M^+ -Signal bei $m/e = 507$ auf. Dieses Ergebnis bestätigte das bereits durch die EI-MS-Methode erhaltene.

Untersuchung von Produkt 34

Die EI-Massenspektren (vgl. Abb. III.27) des Produktes zeigten als höchste Massen Signale bei $m/e = 982$, 684 und 670 (der untere Teil des Spektrums ähnelte dem von PCBE: 614, 493, 346, 315, 313, 302, 300, 287, 243, 229).

Diese Werte waren aber als Molekulargewicht nicht mit den NMR-Daten vereinbar. Es wurde deshalb vermutet, daß sich das Molekül bei den hohen Verdampfungstemperaturen thermisch zersetzte, und/oder daß das Molekülion unter diesen Meßbedingungen zu instabil war, so daß nur Bruchstücke der Substanz gemessen werden konnten.

Deshalb wurde wiederum die FAB-Methode (vgl. S. 62ff) herangezogen, wobei die Substanz in 2-Nitrophenyl-octylether (als Matrix) nun mit Xenon-Atomen - Bevorzugung der höheren Massen, also Erhöhung derer Signale im Vergleich zu Argon⁸³ - beschossen

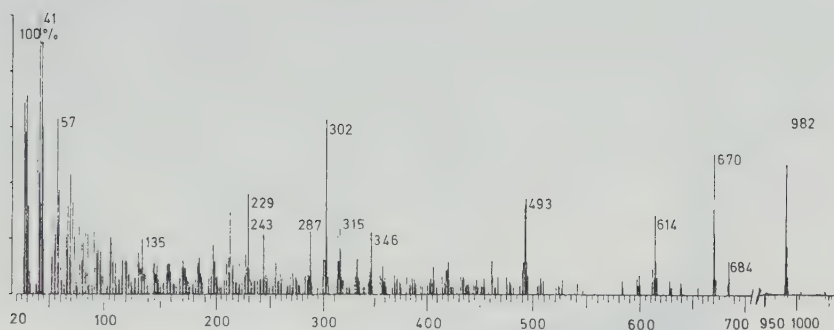


Abb. III.27: EI-Massenspektrum von 34, Verdampfungstemperatur 280 °C, Ionisierungsenergie 70 eV.

wurde. Die Spektren (Abb. III.28) lieferten als höchste Massen Signale bei $m/e = 1260$ - 1265 , wobei die einzelnen Massen durch die unterschiedliche Isotopenverteilung entstanden. Sie zeigen einen M^+ -Peak mit $m/e = 1260$, was mit dem für die Struktur berechneten Molekulargewicht (1260.61) übereinstimmt.

Zur Bestätigung dieses Molekulargewichts wurde die noch schonendere REMPI- (Resonance-enhanced Multi-photon Ionization)^{84,85} Methode benutzt. Diese jüngste Massenspektroskopie-Technik ist speziell für große, empfindliche Moleküle geeignet, da hier sowohl der Verdampfungs- als auch Ionisierungsprozeß mit Hilfe von Laserstrahlen bewirkt wird. Die einzige Information, die man für die Messung benötigt, ist die Kenntnis des Absorptions-Spektrums der zu untersuchenden Substanz. Sie bietet den Vorteil, daß die Laser-Energie so gewählt werden kann, daß man nahezu keine Fragmentierung (zur Bestimmung des Molekulargewichts) oder verstärkt Bruchstücke der Substanz (zur Strukturaufklärung) erzeugt. Weitere Vorteile dieser Methode sind unter anderem die hohe Auflösung ($M/\Delta M \approx 3000$) und die hohe Empfindlichkeit, speziell wenn diese Ionisierungsmethode mit einem "Reflectron Time-of-Flight" (RETOF)-Massenspektrometer kombiniert wird. Die Messungen wurden mit dem in Lit. 85 ausführlich beschriebenen Massenspektrometer mit der Ionisierungswellenlänge $\lambda = 272$ nm und bei einem Auflösungsvermögen des Time-of-Flight-Gerätes von $M/\Delta M = 6000$ durchgeführt.

Die in Abbildung III.29 dargestellten REMPI RETOF-Massenspektren sind nicht gegenüber dem Untergrund korrigiert, sondern direkt so gemessen worden. Sie zeigen jeweils als Basispeak das Molekülion mit $m/e = 1260.6100$ für 34 und $m/e = 614.3104$ für PCBE, die beide sehr gut mit den für die Strukturen berechneten⁸⁶ Werten (1260.6107

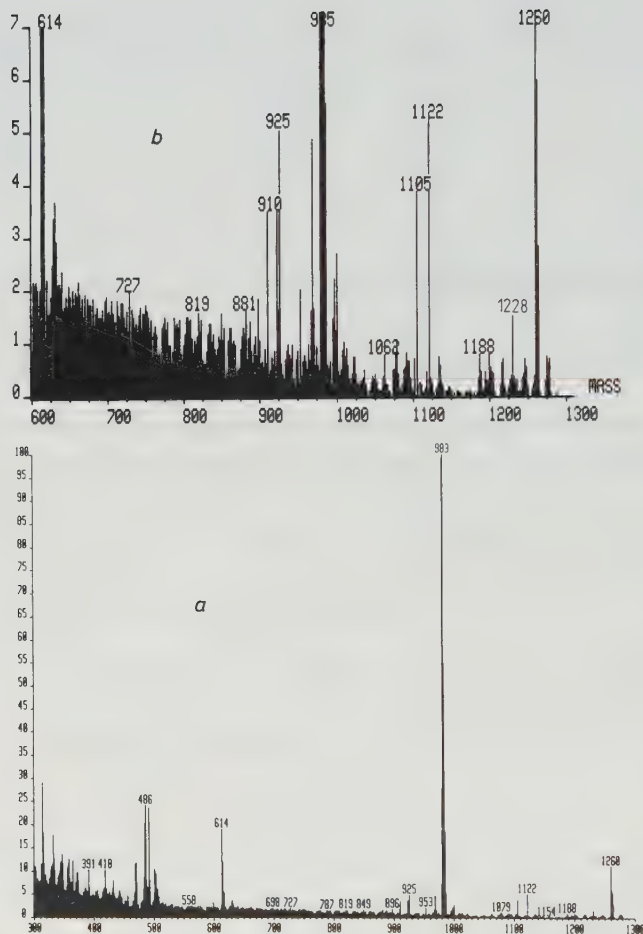


Abb. III.28: FAB-Massenspektren von 34 in 2-Nitrophenyl-octylether mit Xenon-Beschuß. **b** entspricht dem höheren Massenbereich von **a**. Der Bereich unterhalb von $m/e = 614$ kann nicht interpretiert werden, da hier die Matrix-Signale sehr stark vertreten sind.

bzw. 614.3190) übereinstimmen, wobei auch die Isotopenmuster den berechneten Mustern entsprechen.

Das Signal bei 1228 (Spektrum von 34), das eine Intensität von 48% hat und das gleiche Isotopenmuster wie der Molekülpeak aufweist, ist offensichtlich durch die Abspaltung von O_2 aus dem MolekÜlion entstanden. Das Auftreten eines intensiven metastabilen Peaks bei

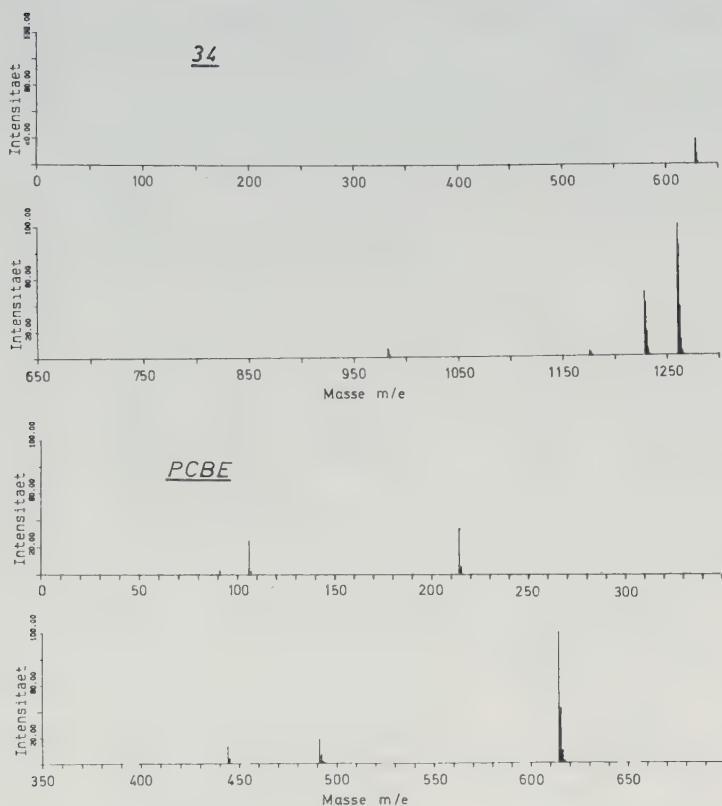


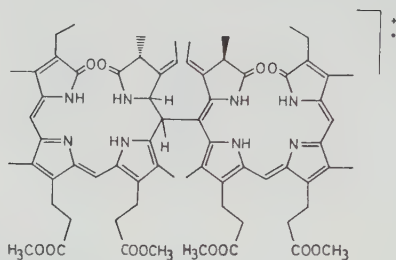
Abb. III.29: REMPI-RETOF-Massenspektrum von 34 und PCBE (als Vergleich), unkorrigiert. Die Signale bei $m/e = 106$ und 91 stammen von Xylol, das zur Eichung benutzt wurde.

$m/e = 1196.8$ ist ein weiteres Indiz für diesen direkten Zerfall^{87a}. Diese O_2 -Abspaltung ist ein zusätzlicher Beweis für die vermutete Struktur mit der Peroxid-Anordnung. Weitere Hinweise über deren "Sitz" im Molekül sowie über die Verknüpfungsstelle zwischen den beiden PCBE-Monomeren erhält man aus den bei den verschiedenen MS-Methoden beobachteten Fragment-Ionen. Die jeweiligen Strukturvorschläge, für deren Entstehung teilweise H-Wanderungen (der Entstehungsweg des Fragment-Ions mit $m/e = 670$ ist noch unklar) angenommen wurden wie schon im Fall von PCBE⁵², sind in Abb. III.30 dargestellt. Diese bestätigen die NMR-Ergebnisse, daß die beiden PCBE-Monomeren jeweils über C(5) miteinander verknüpft sind ($m/e = 982, 684, 670, 628$) und die beiden O-Atome

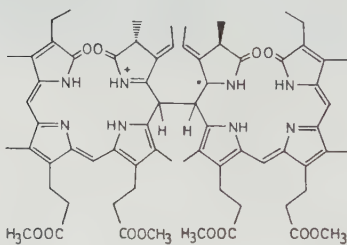
jeweils mit Ring A verbunden sind ($m/e = 1122, 1105, 982$).

1228 :

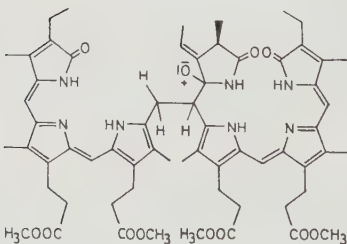
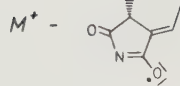
$M^+ - O_2$



oder



1122 :



1105 :

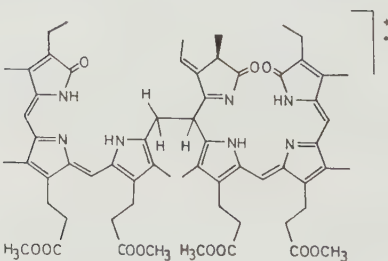
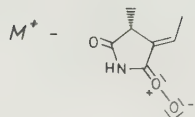


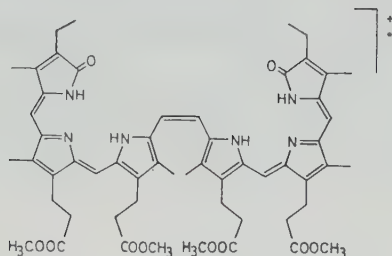
Abb. III.30a: Strukturvorschläge für die Fragmentationen von Substanz 34.

982 :

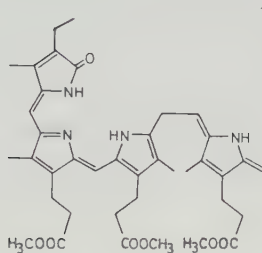
$M^+ - O_2$

- Ring A

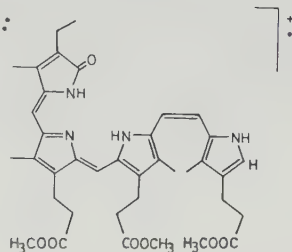
- Ring A'



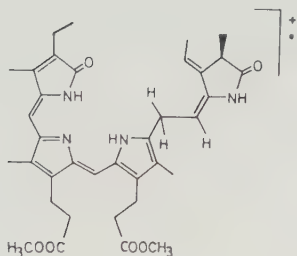
684 :



670 :



628 :



614 :

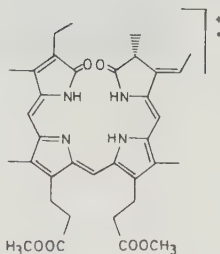


Abb. III.30b: Fortsetzung von Abb. III.30a.

Untersuchung der Produkte 35 und 36

Zur Bestimmung der Molekulargewichte der Produkte 35 und 36 wurde nur die FAB-Massenspektroskopie benutzt. Die Substanzen wurden ebenfalls in 2-Nitrophenyl-octylether gelöst und mit Xenon-Atomen beschossen. Es wurden Schwankungen bei der Bestimmung des intensivsten Signals beobachtet ($m/e = 1260-1263$, Abb. III.31), die durch die Mittelung über die während der Messung aufgenommenen Einzelspektren zustande kamen. Unter der Berücksichtigung, daß

1. sich das Molekulargewicht zu genau 1260.61 berechnet und
2. der Isotopenpeak von $[M+1]^+$ bei 70 C-Atomen pro Molekül schon mit einer Wahr-

scheinlichkeit von 77% (ausgehend von M^+) auftritt^{87b},

belegen die Spektren aber für beide Substanzen ein Molekulargewicht von 1260. Da nicht nur die Molekulargewichte, sondern auch die Fragmentierungsmuster mit denen von 34 übereinstimmen, wird bestätigt, daß 35 und 36 Stereoisomere von 34 sind.

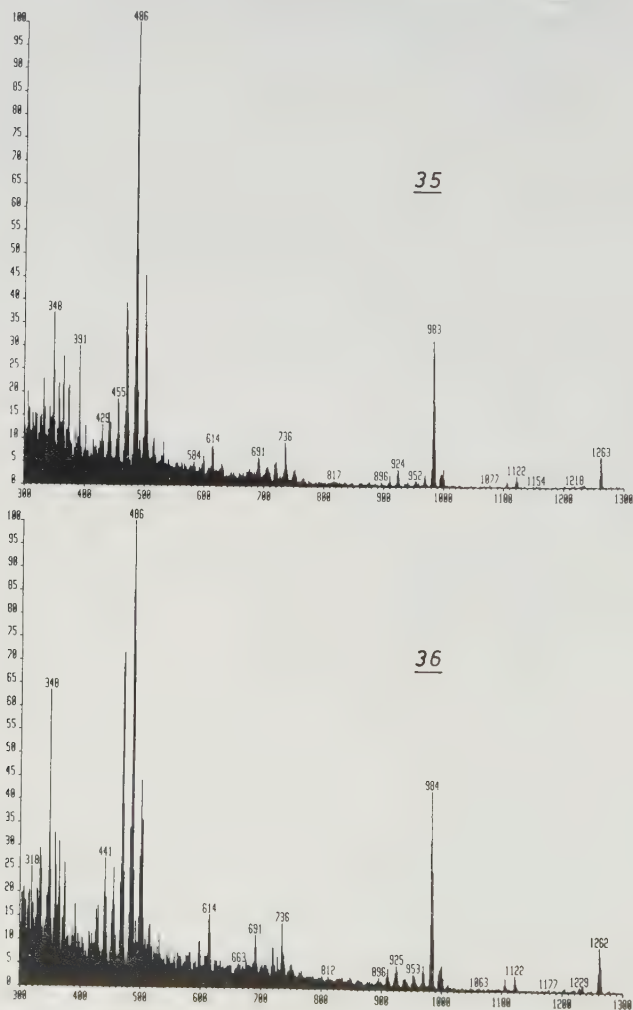


Abb. III.31: FAB-Massenspektren von 35 und 36 in 2-Nitrophenyl-octylether, Xenon-Beschuß. Im unteren Massenbereich (< 614) sind die Signale der Matrix sehr stark vertreten.

III.2.1.3. Diskussion der Ergebnisse, Vorschlag eines Reaktionsmechanismus

Die Kinetik-Untersuchungen der Photooxidation von PCBE lieferten eine Lösungsmittel-, Wellenlängen- und Konzentrationsabhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit **RG** (vgl. Kap. III.2.1.1). Durch Vergleich der **RG** Werte im deuterierten und nicht deuterierten Lösungsmittel konnte gezeigt werden, daß die Photooxidation vom Typ II ist, also über $^1\text{O}_2$ verläuft. Es handelt sich dabei um eine bimolekulare Reaktion, abhängig von $[^1\text{O}_2]$ und **[PCBE]** (vgl. Schema III.5). Da jedoch die $^1\text{O}_2$ -Konzentration aufgrund der geringen Triplett-Quantenausbeute ($\Phi_T \approx 10^{-4}$) wesentlich kleiner ist als die PCBE-Konzentration und diese wegen der sehr kleinen Bleichungs-Quantenausbeute als konstant angesehen werden kann, wird aus der Reaktion 2. Ordnung eine Reaktion pseudo-1. Ordnung, die nur noch von der $^1\text{O}_2$ -Konzentration abhängt.

Damit kann auch die beobachtete Lösungsmittelabhängigkeit von **RG** erklärt werden, wobei eine ansteigende Reaktionsgeschwindigkeit mit einer längeren Lebensdauer τ_Δ von $^1\text{O}_2$ in den Lösungsmitteln korreliert werden kann (vgl. Kap. III.2.1.1, S. 33f). Die im sauren Lösungsmittel geringere Reaktionsgeschwindigkeit wurde auf eine dort kleinere $^1\text{O}_2$ -Löschkonstante von PCBE zurückgeführt, was durch Lumineszenz-Messungen (Kap. III.3.3) bestätigt wurde.

Die Wellenlängenabhängigkeit - größte **RG** Werte im Bereich der Flanken, kleinste im Bereich des Maximums der roten Absorptionsbande (Kap. III.2.1.1) - kann mit Hilfe der Fluoreszenz-Messungen erklärt werden: die helicale Form zeigt eine breite Absorptionsbande, die dem UV-VIS-Spektrum entspricht, die gestreckte Form eine schmale Absorptionsbande im Bereich des Maximums des UV-VIS-Spektrums (Kap. III.3.1.1). Offenbar führte also die Anregung der helicalen Form zur beobachteten Photooxidation, die der gestreckten jedoch nicht. Die relativ geringen Unterschiede in der Reaktionsgeschwindigkeit kann man mit der kleinen Quantenausbeute der Photobleichung ($\Phi_{bl} \approx 10^{-4}$) erklären.

Die Konzentrationsabhängigkeit - Anstieg von **RG** bei Konzentrationserhöhung - kann man mit der Eigenschaft von PCBE, $^1\text{O}_2$ zu sensibilisieren, erklären. Die Erhöhung der PCBE-Konzentration bewirkt einen absoluten Anstieg der $^3\text{PCBE}$ - und somit der $^1\text{O}_2$ -Konzentration, die direkt proportional zu **RG** ist (s.o.). Berücksichtigt man, daß PCBE zusätzlich ein $^1\text{O}_2$ -Löcher ist, dann wird auch der Term $k_q \cdot [\text{PCBE}]$ größer, was zu einem nicht-

linearen Anstieg der absoluten **RG** in Abhängigkeit von der Konzentration führt. Verstärkt wird dieses auch durch die bei höherer Konzentration auftretende Dimeren-Bildung (Kap. III.3.1.1). Da die Moleküle in einem Dimer nicht mehr durch das Lösungsmittel getrennt sind, führt dies zu einer örtlichen Konzentrationserhöhung von PCBE gegenüber dem über die gesamte Lösung gemittelten Wert.

Mit der Strukturaufklärung der Belichtungsprodukte (33 - 36, vgl. Kap. III.2.1.2) erhielt man Hinweise auf die Reaktivität von PCBE und auf die Art der Aggregatbildung (vgl. S. 57f) in Lösung:

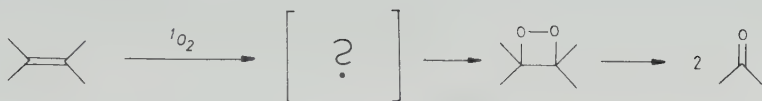
Die untersuchten Produkte sind alle durch Angriff von $^1\text{O}_2$ an die 4,5-Doppelbindung von PCBE entstanden. Da $^1\text{O}_2$ eine elektrophile Spezies ist⁸⁸, bedeutet das, daß sich dort die elektronenreichste, also reaktivste Stelle des Moleküls befindet. Dafür spricht auch das Resultat der Belichtung von $\text{PCBE} \cdot \text{H}^+$, bei der nahezu keine Photooxidation stattgefunden hat. Dieses läßt sich durch den Angriff eines Protons an C(5) erklären, der die Aufhebung der Doppelbindung zur Folge hat.

Die Addition von $^1\text{O}_2$ an Olefine führt im Allgemeinen zur Bildung von Allyl-Hydroperoxiden und Dioxetanen, wobei letztere meistens so instabil sind, daß sie bei Raumtemperatur zu Ketonen bzw. Aldehyden spalten. Es wird im folgenden nur die Dioxetan-Bildung betrachtet, da bei der 4,5-Doppelbindung von PCBE kein Allyl-Wasserstoff vorhanden ist.

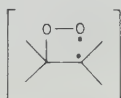
Für den Reaktionsmechanismus der Bildung der Produkte sind in der Literatur verschiedene Möglichkeiten vorgeschlagen worden (vgl. Abb. III.32), wovon jedoch noch keine als die einzig richtige bestätigt werden konnte, da je nach Reaktionsbedingungen ein anderer Mechanismus bevorzugt zu sein scheint⁸⁹⁻⁹².

Versucht man nun dieses auf die Photooxidation von PCBE zu übertragen, so kann die Bildung von 33 gut mit einer Dioxetan-Bildung mit anschließender Spaltung in den Aldehyd 33 und eine weitere Carbonylkomponente (3-Methyl-4-ethyliden-succinimid) erklärt werden (Abb. III.33), wobei die Dioxetan-Bildung aufgrund der unsymmetrisch substituierten 4,5-Doppelbindung vermutlich über die zwitterionische Zwischenstufe **Z** verläuft⁹².

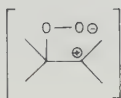
Bildung von Dioxetanen^{91,92}:



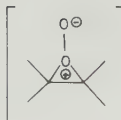
a) über Radikale:



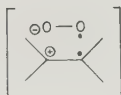
b) über Zwitterionen:



c) über Peroxirane:



d) nach Elektronentransfer:



e) konzertiert:

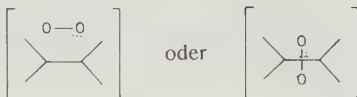


Abb. III.32: Mögliche Mechanismen der Dioxetan-Bildung.

Für die Bildung von 34, 35 und 36, die formal eine [2+2+2]-Cycloaddition darstellt, ging man davon aus, daß zunächst nur ein PCBE-Molekül (A) von $^1\text{O}_2$ angegriffen wird unter Bildung einer Dioxetan-Zwischenstufe - vermutlich wiederum der zwitterionischen -, wobei der Sauerstoff an C(4), dem höher substituierten Kohlenstoff⁹³ dieser Doppelbindung, lokalisiert ist. Diese Zwischenstufe Z wird dann durch ein anderes PCBE-Molekül (B) abgefangen, wobei es von der 5-Position des Moleküls B an C(5) angegriffen wird

und der Sauerstoff dann die 4-Position von B angreift (Abb. III.33).

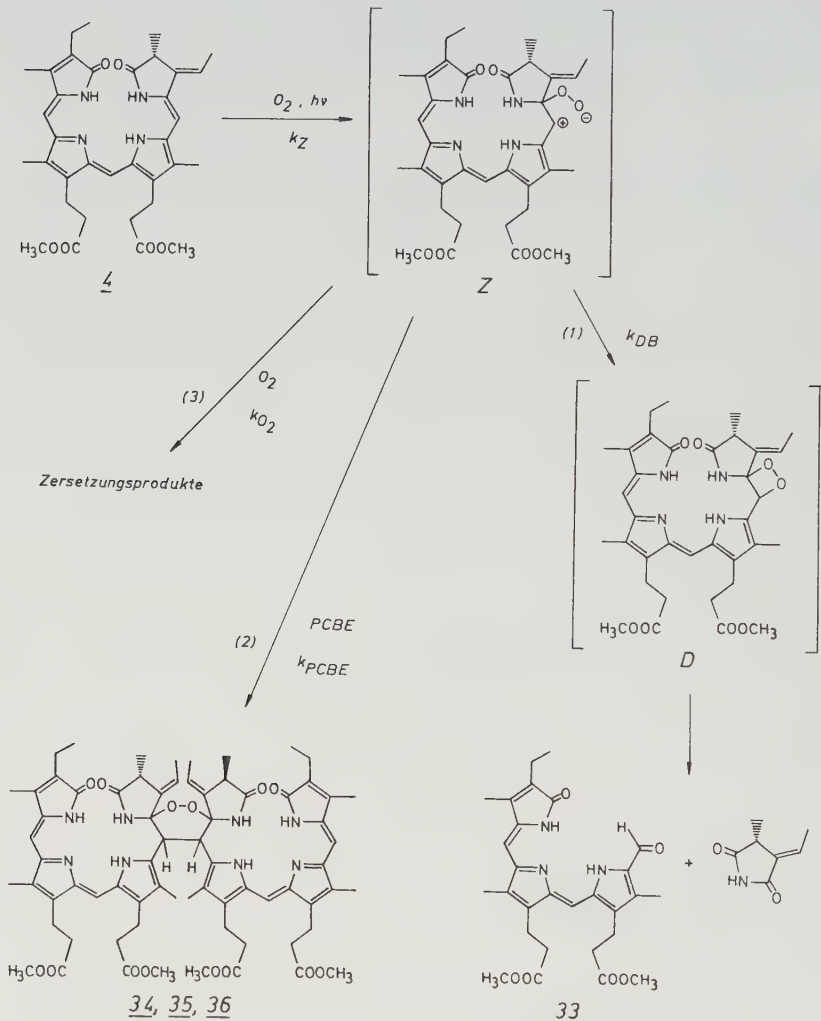


Abb. III.33: Vermuteter Reaktionsmechanismus der Photooxidation von PCBE, Bildung von **Z** ist geschwindigkeitsbestimmender Schritt mit k_Z , (1) Bildung von **33** mit $k_{DB} \cdot [Z]$, (2) Bildung von **34** bzw. **35** und **36** mit $k_{PCBE} \cdot [PCBE] \cdot [Z]$ und (3) Bildung der Zersetzungsprodukte mit $k_{O_2} \cdot [O_2] \cdot [Z]$, wobei (2) und (3) pseudo 1. Ordnung sind, da $[PCBE]$ und $[O_2]$ quasi konstant sind.

Da 33 und 34 (und somit auch 35 und 36) also vermutlich über dieselbe Zwischenstufe - ihre Bildung (mit k_Z) ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Photooxidation, vgl. S. 71 - gebildet werden, ist das Produkt-Verhältnis von den folgenden Faktoren abhängig:

1. der Lebensdauer $\tau_Z = 1/k_{DB}$ (Weg 1) der Zwischenstufe Z,
2. der Geschwindigkeitskonstanten k_{PCBE} der Abfangreaktion durch PCBE (Weg 2),
3. der Konzentration von PCBE,
4. der Geschwindigkeitskonstanten k_{O_2} der Abfangreaktion durch Grundzustands-Sauerstoff, was zu Zersetzungsprodukten führt (Weg 3), wobei ungeklärt bleibt, ob alle Zersetzungsprodukte dadurch gebildet werden, und
5. der Grundzustands-Sauerstoff-Konzentration.

Es konkurrieren also PCBE und O_2 bei dieser Abfangreaktion, wodurch auch die Abhängigkeit der Produktbildung von der O_2 -Konzentration (Kap. III.2.1.2) erklärt werden kann:

Steigt die O_2 -Konzentration von 10^{-5} - 10^{-6} M (sauerstoffarme Lösung), also äquimolar zur PCBE-Konzentration, auf 10^{-3} - 10^{-2} M (sauerstoffgesättigte Lösung), dann ist das Produkt $[Z] \cdot k_{O_2} \cdot [O_2]$ (Bildung der Zersetzungsprodukte) um einen Faktor von mindestens 10^2 - 10^3 größer als das von $[Z] \cdot k_{PCBE} \cdot [PCBE]$ (Bildung der Photodimeren). Dieses ist gültig unter der Annahme, daß beide Geschwindigkeitskonstanten in derselben Größenordnung liegen, wobei jedoch k_{O_2} eher noch größer als k_{PCBE} ist, was man aus dem Verhältnis von Zersetzungsprodukt zu Photodimer in sauerstoffarmer Lösung schließen kann. Dieses führt dazu, daß bei der kleinen Quantenausbeute der Reaktion ($\approx 10^{-4}$) und der in sauerstoffarmer Lösung ohnehin schon geringen Quantenausbeute der Bildung der Photodimeren ($\Phi_{pr} \approx 5 \cdot 10^{-6}$) diese nicht mehr beobachtet werden (da unterhalb der Nachweisgrenze), während die Bildung von 33, also der Zerfall von Z, dadurch nicht so stark beeinflusst wird (je kleiner die Lebensdauer τ_Z , um so kleiner ist dieser Einfluß).

III.2.2. (3'R)-3,3'-Dihydro-3'-methoxy-phycoyanobilindimethylester

Zur Überprüfung, ob das Tetrapyrrolsystem auch beim Fehlen der 3,3'-Doppelbindung noch $^1\text{O}_2$ sensibilisiert und mit diesem reagiert, wurde nun MePCBE (19a) in sauerstoff-gesättigtem Toluol belichtet und das Verhalten mit UV-VIS-Differenzspektren kontrolliert.

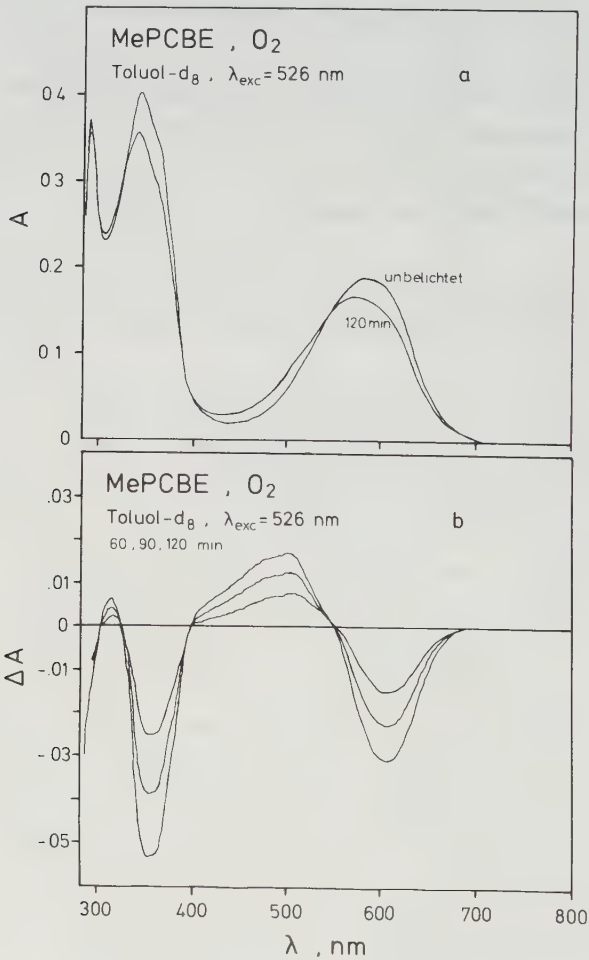


Abb. III.34: Absorptions-Spektrum (a) der belichteten (2 h) und unbelichteten MePCBE-Lösung, sowie die dazugehörigen Absorptionsdifferenz-Spektren (b).

Man konnte - analog zu PCBE (Kap. III.2.1.1, Abb. III.4) - eine Bleichung der beiden Absorptionsmaxima ($\lambda_{\text{max}} = 340, 586 \text{ nm}$) von MePCBE und das Entstehen von zwei neuen Banden ($\lambda_{\text{max}} = 310, 480\text{-}500 \text{ nm}$) beobachten (Abb. III.34.b).

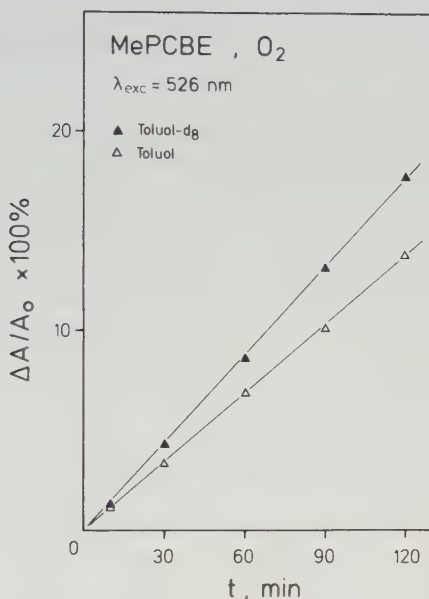


Abb. III.35: Belichtung von MePCBE in sauerstoffgesättigtem Toluol mit $\lambda^{\text{exc}} = 526 \text{ nm}$ und $\lambda^{\text{obs}} = 605 \text{ nm}$. Vergleich: deuteriertes ↔ nicht deuteriertes Lösungsmittel.

Analog wurde auch beim Vergleich der Reaktionsgeschwindigkeiten in deuteriertem und nicht deuteriertem Toluol ein Deuteriumeffekt festgestellt, der zwar etwas kleiner war ($\text{RG}^{\text{D}} : \text{RG}^{\text{H}} = 1.30$, vgl. Abb. III.35) als bei PCBE (vgl. Abb. III.9), aber trotzdem darauf schließen läßt, daß MePCBE ebenfalls sowohl ein $^1\text{O}_2$ -Sensibilisator als auch ein $^1\text{O}_2$ -Löcher ist. Dieses Bilatrien bildet somit auch einen Triplett-Zustand bei Lichtanregung.

Die 3,3'-Position hat also keinen Einfluß auf das Verhalten der Substanzen nach Lichtanregung.

III.3. Photophysik

III.3.1. Fluoreszenz-Spektroskopie

III.3.1.1. Phycocyanobilindimethylester

PCBE in Methanol

Bei der Fluoreszenz-Anregung einer $4 \cdot 10^{-6}$ molaren PCBE-Lösung in neutralem MeOH

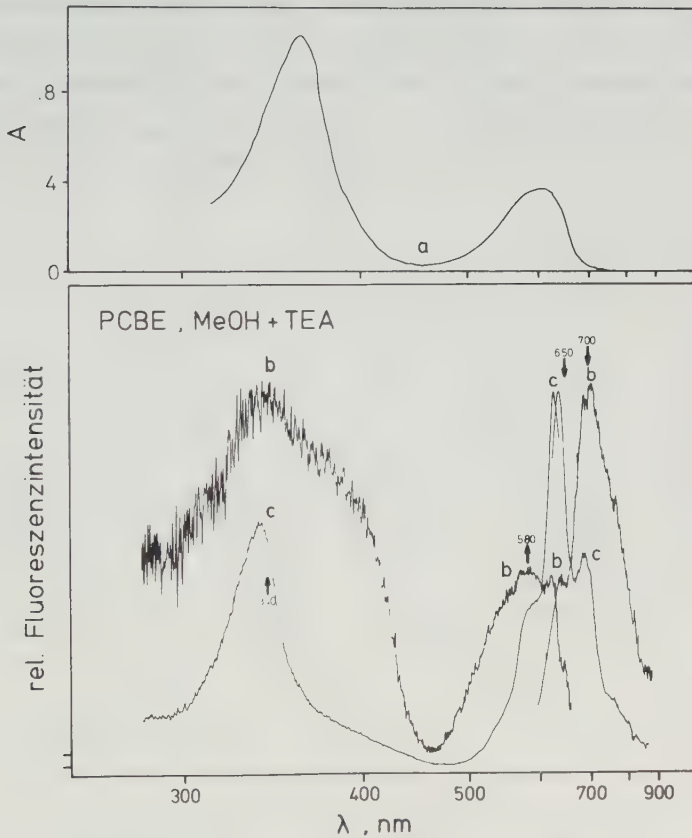


Abb. III.36: UV-VIS-Spektrum (a) und Fluoreszenz-Spektren (b,c) von PCBE in MeOH + 10 mM TEA. Anregungsspektren bei $\lambda_{\text{em}} = 650$ nm (c) und 700 nm (b), Emissionsspektren bei $\lambda_{\text{exc}} = 340$ nm (c) und 580 nm (b).

(+ 10 mM TEA, zur Stabilisierung der neutralen PCBE-Form) mit $\lambda^{\text{exc}} = 340 \text{ nm}$ (Abb. III.36.c) beobachtet man eine schmale Emissionsbande mit Maximum bei 633 nm und einer Schulter bei 680 nm. Mit der Anregung einer $3 \cdot 10^{-5}$ molaren Lösung bei $\lambda^{\text{exc}} = 580 \text{ nm}$ (Abb. III.36.b) wird die schmale Emissionsbande bei 633 nm als Schulter einer breiten Bande mit zwei Maxima bei 680 und 705 nm beobachtet.

In Analogie zu den Untersuchungen an BVE^{31,36,38} wurde die schmale Bande bei 633 nm einer gestreckten Form zugeordnet, dessen Anregungsspektrum ($\lambda_{\text{max}} = 337, 623 \text{ nm}$; $D_{\text{UV}}/D_{\text{VIS}} = 1.2$) man mit $\lambda^{\text{em}} = 650 \text{ nm}$ erhält. Das Verhältnis der Dipolstärken von kurzwelliger zu langwelliger Absorptionsbande - hier nur durch Verhältnisbildung der Absorptionen der jeweiligen Maxima bestimmt - ist ein Maß für die flächenmäßige Ausdehnung eines Bilatriens⁹⁴. Das Emissions-Maximum bei 680 nm repräsentiert die helicale Form, dessen Anregungsspektrum ($\lambda_{\text{max}} \approx 400, 582 \text{ nm}$; $D_{\text{UV}}/D_{\text{VIS}} \approx 1.6$) mit $\lambda^{\text{em}} = 700 \text{ nm}$ beobachtet wird, wobei noch eine Überlagerung durch die gestreckte Form und das Dimere zu sehen ist.

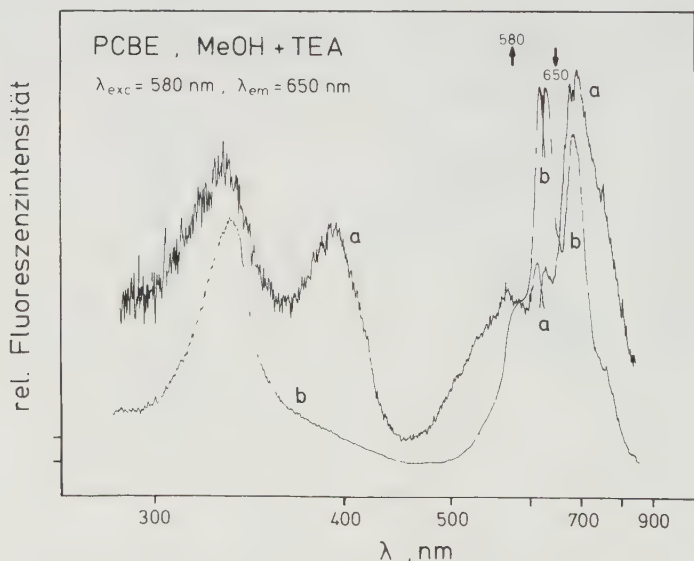


Abb. III.37: Konzentrations-Abhängigkeit der Fluoreszenz- und Anregungs-Spektren von PCBE in MeOH + 10 mM TEA; $c = 3 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ (a), $4 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ (b).

Das Maximum des Emissionsspektrums bei 705 nm konnte einem Dimer mit Absorptions-

maxima bei ≈ 400 und 574 nm (vgl. Abb. III.37.a) zugeordnet werden, das bei niedrigerer Konzentration ($4 \cdot 10^{-6}$ M) nicht mehr beobachtet wurde (Abb. III.37.b). Durch Wahl der geeigneten Wellenlänge innerhalb der UV-Bande konnten also bei PCBE die einzelnen Spezies selektiv angeregt werden (Abb. III.38).

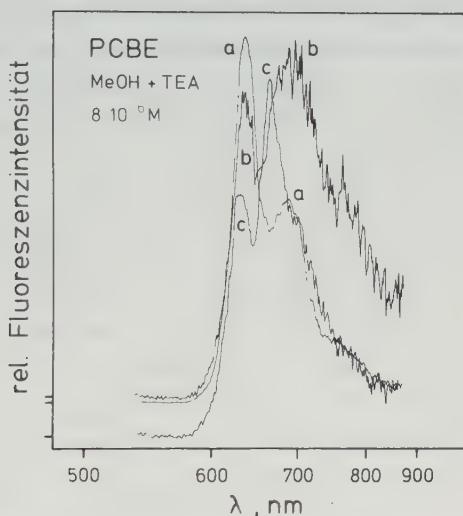


Abb. III.38: Wellenlängen-Abhängigkeit der Emissions-Spektren von PCBE in MeOH + 10 mM TEA; $\lambda^{\text{exc}} = 340$ nm (a), 390 nm (b), 400 nm (c).

Die Fluoreszenz-Spektren von PCBE zeigen also ein Nebeneinander verschiedener Formen (gestreckt, helical, Dimer) in Lösung, wobei die helicale bevorzugt ist. Dies wurde aus dem Vergleich der Fluoreszenz-Spektren mit dem UV-VIS-Spektrum ($\lambda_{\text{max}} = 610, 363$ nm; $D_{\text{UV}}/D_{\text{VIS}} = 3.02$), das die "Einhüllende" der verschiedenen Konformeren in Lösung darstellt, geschlossen (vgl. Abb. III.36). Die NMR-Ergebnisse (NOE-Messungen $\rightarrow$ Z-syn, Z-syn, Z-syn, Kap. III.2.1.2) bestätigten diese Schlußfolgerung (vgl. auch Lit. 95).

Die Fluoreszenz-Quantenausbeute betrug in neutralem MeOH $\Phi_F(\lambda^{\text{exc}} = 540 \text{ nm}) = 1.95 \cdot 10^{-3}$ und in saurem MeOH (+ 10 mM TFA; $\lambda_{\text{max}} = 374, 696$ nm; $D_{\text{UV}}/D_{\text{VIS}} = 1.25$), in dem ebenfalls verschiedene Formen beobachtet wurden. $\Phi_F(\lambda^{\text{exc}} = 540 \text{ nm}) = 2.5 \cdot 10^{-3}$. Als Referenzsubstanz diente Cresylviolett mit $\Phi_F = 0.54$ in MeOH⁹⁶. Aufgrund der unterschiedlichen elektronischen Situation von $\text{PCBE} \cdot \text{H}^+$ und PCBE können die Ergebnisse nicht miteinander verglichen werden, insbesondere hinsichtlich der $D_{\text{UV}}/D_{\text{VIS}}$ -Verhältnisse.

PCBE in Toluol

Bei den Fluoreszenz-Messungen von PCBE in neutralem Toluol wurden wie schon in neutralem MeOH verschiedene Formen beobachtet (gestreckt, helical, Dimer), die ähnliche Emissions- und Anregungs-Spektren zeigten wie in MeOH. Auch hier überwiegt die helicale Form, was man aus der Lage der Absorptionsmaxima ($\lambda_{\text{max}} = 368, 600 \text{ nm}$) des UV-VIS-Spektrums und des Intensitätsverhältnisses der beiden Banden ($D_{\text{UV}}/D_{\text{VIS}} = 2.62$) schließen kann.

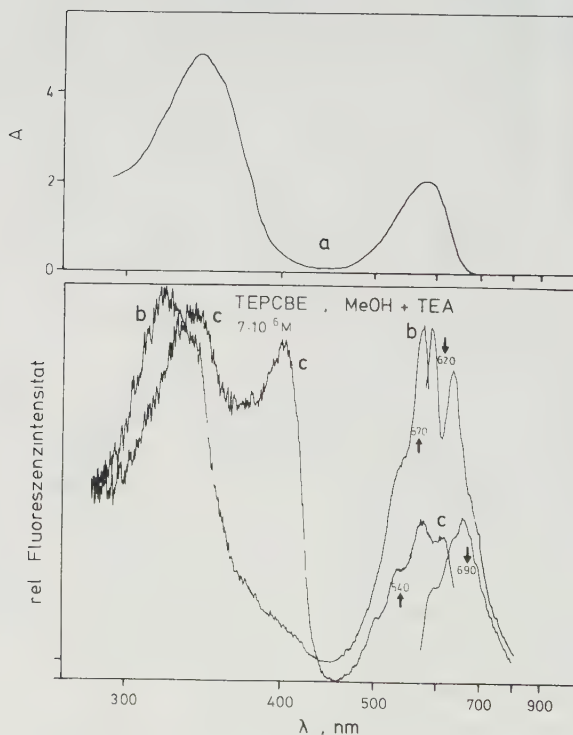


Abb. III.39: UV-VIS-Spektrum (a) und Fluoreszenz-Spektren (b,c) von TEPCBE in MeOH + 10 mM TEA, Anregungsspektren bei $\lambda_{\text{em}} = 620 \text{ nm}$ (b), 690 nm (c), Emissionsspektren bei $\lambda_{\text{exc}} = 570 \text{ nm}$ (b), 540 nm (c).

III.3.1.2. (3'S)-3,3'-Dihydro-3'-thioethoxy-phycocyanobilindimethylester

Bei den Fluoreszenzmessungen einer $7 \cdot 10^{-6}$ molaren Lösung von TEPCBE (22b) in neutralem MeOH (+ 10 mM TEA) konnte man wie beim PCBE verschiedene Spezies beobachten, jedoch nicht so gut getrennt wegen der stärkeren Überlappung ihrer Spektren. Mit $\lambda^{\text{exc}} = 570$ nm (Abb. III.39.b) erhielt man ein Emissionsspektrum, das zwei Maxima aufweist ($\lambda^{\text{em}} = 595, 639$ nm), und mit $\lambda^{\text{exc}} = 540$ nm (Abb. III.39.c) ein breites Emissionsspektrum mit Maximum bei 662 nm und Schultern bei 639 und 595 nm. Der gestreckten Form wurde in Analogie zu PCBE die schmale Emissionsbande bei 595 nm zugeordnet, die überlagert ist von der Bande der helicalen Form bei 639 nm (Spektrum b). Mit beiden Wellenlängen regt man also beide Formen an mit einer nur leichten Bevorzugung einer der beiden. Das zusätzliche Maximum bei 662 nm (Abb. III.39.c) wurde einem Dimeren zugeordnet. Bei dem Versuch, dessen Absorptionsspektrum zu erhalten mit $\lambda^{\text{em}} = 690$ nm (Abb. III.39.c), konnte aber nur das Spektrengemisch aller drei Spezies gemessen werden ($\lambda_{\text{max}} = 581$ nm, Schultern bei 621 und 541 nm; $\lambda_{\text{max}} = 337, 400$ nm). Die Absorption bei 400 nm wurde einem Dimeren zugeordnet nach Aufnahme des Emissionsspektrums mit $\lambda^{\text{exc}} = 400$ nm (schmale Bande bei 662 nm, Abb. III.40).

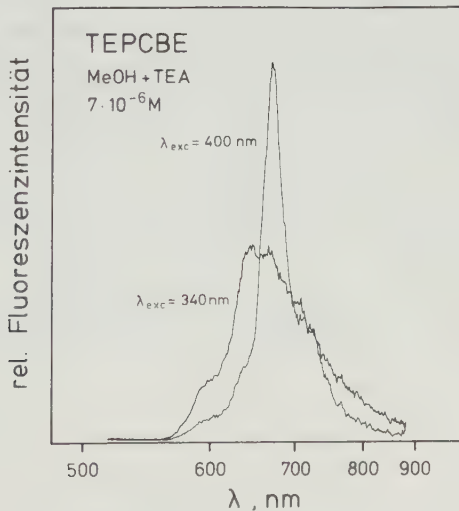


Abb. III.40: Fluoreszenz-Spektren von TEPCBE in MeOH + 10 mM TEA mit $\lambda^{\text{exc}} = 340, 400$ nm.

Mit $\lambda^{\text{em}} = 620 \text{ nm}$ (Abb. III.39.b) erhielt man überwiegend das Absorptionsspektrum der gestreckten Form ($\lambda_{\text{max}} = 320, 581 \text{ nm}$, Schultern bei 340 und 541 nm). Die Schultern stammen von der helicalen Form, was mit der Anregung bei $\lambda^{\text{exc}} = 340 \text{ nm}$ (Abb. III.40) gezeigt werden konnte.

Durch Vergleich der Absorptionsspektren der einzelnen Spezies mit dem UV-VIS-Spektrum der Substanz (Abb. III.39a, $\lambda_{\text{max}} = 345, 580 \text{ nm}$) kann man schließen, daß TEPCBE wie PCBE überwiegend in der helicalen Form vorliegt. Dem $D_{\text{UV}}/D_{\text{VIS}}$ -Verhältnis kann man entnehmen, daß die Helix anscheinend etwas aufgeweitet ist gegenüber der von PCBE (TEPCBE: $D_{\text{UV}}/D_{\text{VIS}} = 2.30$; PCBE: $D_{\text{UV}}/D_{\text{VIS}} = 3.02$). Die Fluoreszenz-Quantenausbeute, $\Phi_{\text{F}}(\lambda^{\text{exc}} = 540 \text{ nm}) = 4.0 \cdot 10^{-3}$, liegt in der gleichen Größenordnung wie die von PCBE.

III.3.1.3. Photodimer 34

Bei Anregung einer $2.5 \cdot 10^{-6}$ molaren Lösung von 34 in neutralem MeOH (+ 10 mM TEA) mit $\lambda^{\text{exc}} = 510 \text{ nm}$ (Abb. III.41.b) wurde eine breite Emissionsbande mit Maximum bei 636 nm beobachtet. Regt man diese Lösung mit $\lambda^{\text{exc}} = 340 \text{ nm}$ an, dann zeigt sich eine sehr schmale Emissionsbande bei 631 nm, die eine Schulter bei 677 nm aufweist (Abb. III.41.c). In Analogie zu PCBE wurde die breite Bande mit Maximum bei 636 nm einer helical gekrümmten, und die schmale Emissionsbande bei 631 nm einer gestreckten Form zugeordnet. Mit $\lambda^{\text{em}} = 610 \text{ nm}$ erhält man das Absorptionsspektrum ($\lambda_{\text{max}} = 325, 556 \text{ nm}$; $D_{\text{UV}}/D_{\text{VIS}} = 1.96$) der helical gekrümmten Form, mit $\lambda^{\text{em}} = 690 \text{ nm}$ erhält man das der gestreckten ($\lambda_{\text{max}} = 336, 622 \text{ nm}$; $D_{\text{UV}}/D_{\text{VIS}} = 1.22$), wobei noch eine Schulter der helicalen beobachtet wurde.

Aus dem Vergleich dieser Spektren mit dem Absorptionsspektrum ($\lambda_{\text{max}} = 322, 554 \text{ nm}$, Abb. III.41.a) dieser Lösung kann man schließen, daß sich beide Molekülhälften A und B (vgl. Abb. III.18) zwar in der helicalen Form befinden, aber daß diese Helices gegenüber der PCBE-Helix aufgeweitet sein müssen, wie man dem $D_{\text{UV}}/D_{\text{VIS}}$ -Verhältnis entnehmen kann (34: 1.49 ; PCBE: 3.02). Es wurde wie beim PCBE eine Fluoreszenz-Quantenausbeute von $\Phi_{\text{F}}(\lambda^{\text{exc}} = 500 \text{ nm}) = 1.99 \cdot 10^{-3}$ beobachtet.

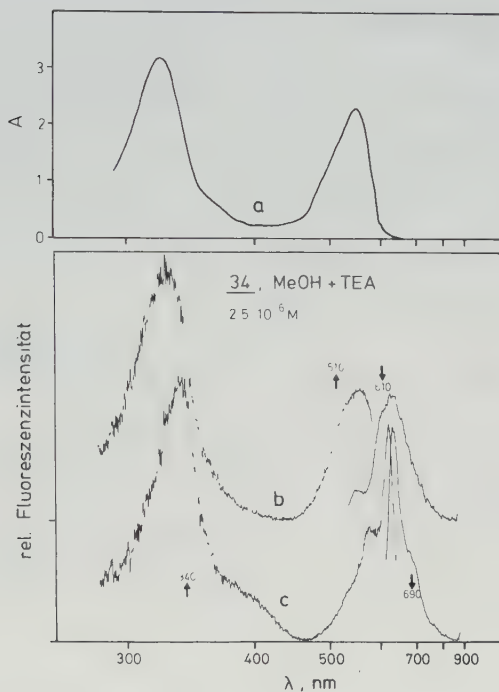


Abb. III.41: UV-VIS-Spektrum (a) und Fluoreszenz-Spektren (b,c) von 34 ($2.5 \cdot 10^{-6}$ M) in MeOH + 10 mM TEA. Emissionsspektren bei $\lambda_{exc} = 510$ nm (b), 340 nm (c), Anregungsspektren bei $\lambda_{em} = 610$ nm (b), 690 nm (c).

Bei den untersuchten Substanzen wurden gestreckte und helicale Formen sowie Monomere und Dimere in Lösung beobachtet, wobei stets die helicale Form überwog. Es konnten keine großen Unterschiede zwischen den einzelnen Verbindungen festgestellt werden, wobei auch ihre Fluoreszenz-Quantenausbeuten alle in derselben Größenordnung lagen.

Mit Hilfe der Fluoreszenz-Messungen konnten die beobachteten Prozesse nach Lichtanregung von PCBE (vgl. Kap. III.2 und III.3.2.1) und TEPCBE (vgl. Kap. III.3.2.2) auf die unterschiedlichen Reaktivitäten der helicalen und gestreckten Form zurückgeführt werden (vgl. Kap. III.3.4).

III.3.2. Optoakustik-Spektroskopie

Die Laser-induzierte Optoakustik-Spektroskopie (LIOAS)⁹⁷ ist eine Methode zur Messung der Wärme, die von einer mit einem Laser-Puls angeregten Probe abgegeben wird. Diese erzeugt in der Lösung eine zylindrische Druckwelle, die sich senkrecht zum Laserstrahl mit Schallgeschwindigkeit ausbreitet und detektiert wird. In der gemessenen Signal-Amplitude werden also strahlungslose Desaktivierungsprozesse registriert unter der Voraussetzung, daß diese innerhalb der sog. akustischen Transitzeit τ_a stattfinden. τ_a ist die Zeit, die von der Schallwelle benötigt wird, das beleuchtete Probenvolumen zu durchlaufen; sie kann durch den Durchmesser des Laserstrahls eingestellt bzw. variiert werden. Da diese im Bereich von 50 ns - 4 μ s liegt, tragen nur sehr schnelle Prozesse wie z.B. Internal Conversion (IC, $S_1 \rightarrow S_0$) oder Intersystem Crossing (ISC, $S_1 \rightarrow T_1$) zum detektierten Signal bei; man spricht deshalb auch von "prompt heat".

Die Amplitude H dieses Drucksignals ist proportional zu dem von der Lösung absorbierten Anteil der Lichtenergie (Gl. III.16), der sich aus dem Produkt von eingestrahelter Energie E_0 und Absorbanz der Lösung $(1 - 10^{-A})$ berechnet:

$$H = \alpha \cdot k \cdot E_0 \cdot (1 - 10^{-A}) \quad . \quad \text{III.16}$$

k ist dabei eine Proportionalitätskonstante, die sowohl die thermoelastischen Eigenschaften des Lösungsmittels als auch apparativ bedingte Faktoren berücksichtigt. Der Wert α ist ein Maß für den Anteil der absorbierten Energie, der durch schnelle ($< \tau_a$) strahlungslose Desaktivierungsprozesse frei wird. Der Wert $\alpha = 1$ wird also dann erreicht, wenn die Anregungsenergie vollständig in Form von "prompter" Wärme abgegeben wird (d.h. weder Fluoreszenz, langsame strahlungslose Desaktivierungsprozesse noch Photochemie finden statt), wie es für eine ideale optoakustische Referenzsubstanz gefordert wird. Ist dieses bei einer Probe nicht der Fall, dann sinkt α auf einen Wert < 1 . Der genaue α -Wert einer Substanz wird durch eine Vergleichsmessung mit einer Referenz bestimmt, wofür diese im selben Wellenlängenbereich absorbieren muß wie die zu untersuchende Substanz.

Werden sowohl Probe als auch Referenz unter identischen (Lsgsm. A, λ^{exc}) Bedingungen gemessen, dann gilt:

$$\frac{H_P^i / E_0^i}{H_R^j / E_0^j} = \alpha \quad . \quad \text{III.17}$$

Die Auftragung von H/E_0 gegen $1 \cdot 10^{-A}$ für Probe und Referenz ergibt zwei Geraden, wobei das Verhältnis ihrer Steigungen (Probe/Referenz) den Wert α liefert³⁴ (vgl. Abb. III.43).

III.3.2.1. Phycocyanobilindimethylester

Es wurden Messungen an PCBE im sauren (+ 2.5 mM TFA) und neutralen (+ 10 mM TEA, zur Stabilisierung der neutralen PCBE-Form) Methanol (sauerstoffarme, vgl. Kap. III.2.1.1, und sauerstoffgesättigte Lösungen zeigten keine Unterschiede) mit verschiedenen Anregungswellenlängen im Bereich der roten Absorptionsbande von PCBE (vgl. Abb. III.36) durchgeführt. Für jede Anregungswellenlänge wurden Energie- und Konzentrationsabhängigkeiten gemessen; die Konzentrationen der Lösungen wurden dabei so eingestellt, daß die Absorptionen $A(\lambda^{exc})$ zwischen 0.05 und 0.3 lagen. Als Referenzlösung

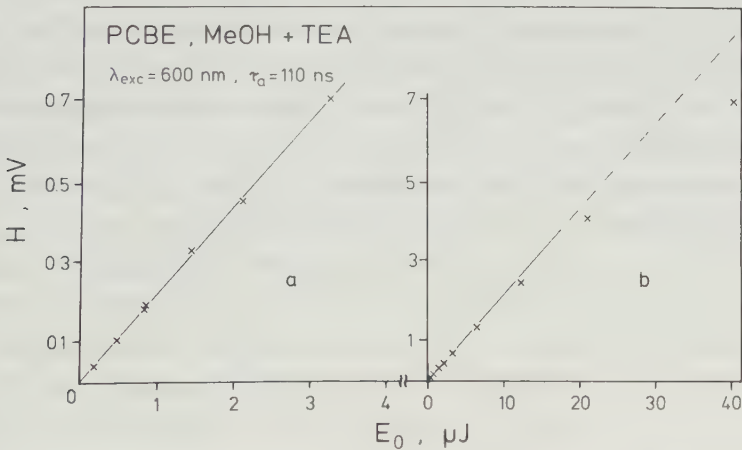


Abb. III.42: Energieabhängigkeit der Optoakustik-Signal-Amplitude H bei Anregung ($\lambda^{exc} = 600 \text{ nm}$) von PCBE in MeOH + 10 mM TEA; linearer (a) und nicht linearer (b) Bereich.

wurde Kupfer(II)- oder Kobalt(II)chlorid in Methanol benutzt. Jede dieser Messungen wurde bei 4-5 verschiedenen Anregungsenergien durchgeführt im linearen Bereich der Energieabhängigkeit ($40 \text{ nJ} - 4 \text{ } \mu\text{J/Laserpuls}$, $\approx 2 \cdot 10^{-3} - 20$ Photonen pro Molekül, Abb. III.42.a). Höhere Anregungsenergien führten zur Sättigung (Abb. III.42.b).

Die Auswertung der Meßwerte (vgl. S. 86f) lieferte α -Werte, die in Abhängigkeit von λ^{exc} zwischen 0.7 und 1.0 schwankten, wobei die kleinsten im Bereich des Maximums und die größten im Bereich der beiden Flanken der Absorptionsbande zu finden waren (vgl. Tab. III.5).

Tabelle III.5: Wellenlängenabhängigkeit der α -Werte bei Messung von PCBE in neutralem (+ 10 mM TEA) und saurem (+ 2.5 mM TFA) MeOH.

neutral		sauer	
λ^{exc} , nm	α -Wert	λ^{exc} , nm	α -Wert
550	1.0	640-650	0.8
600-620	0.7	690-710	0.6
640	0.83-0.85	735	0.8
660	1.0		

Da selbst die Summe von Fluoreszenz- (Kap. III.3.1) und Triplett- (Kap. III.3.3) Quantenausbeute (die Photobleichung ist abhängig von der Triplett-Bildung) zu klein ist, um für den fehlenden Energieanteil (vgl. α -Werte) verantwortlich zu sein, wurde analog zu BVE³⁴ auf eine Photoisomerisierung geschlossen. Die Abhängigkeit der α -Werte von der Anregungswellenlänge kann man mit dem Vorliegen von PCBE in zwei verschiedenen Spezies erklären (Kap. III.3.1), die unterschiedliche Isomerisierungsfähigkeit besitzen. Im Bereich der kleinsten α -Werte (also größte Effizienz der Photoisomerisierung) liegt die Absorptionsbande der gestreckten Form (vgl. Abb. III.36), während im Bereich der größten α -Werte (≈ 1) nur die helicale Form absorbiert (auch bei $\text{PCBE} \cdot \text{H}^+$). Eine Photoisomerisierung wird offenbar nur von der gestreckten Form durchgeführt, wofür man einen weiteren Hinweis aus konzentrationsabhängigen OAS-Messungen erhält ($\lambda^{\text{exc}} = 600 \text{ nm}$) - Ansteigen der α Werte, also Abnahme der Isomerisierungs-Effizienz mit zunehmender PCBE-Konzentration ($c \approx 40\text{-}50 \text{ } \mu\text{M} \rightarrow \alpha \approx 1.0$, Abb. III.43) - im Vergleich mit konzentrationsabhängigen Fluoreszenz-Messungen (Kap. III.3.1), bei denen eine Abnahme der gestreckten Form zugunsten eines Dimers mit zunehmender Konzentration beobachtet

worden war (vgl. Abb. III.37).

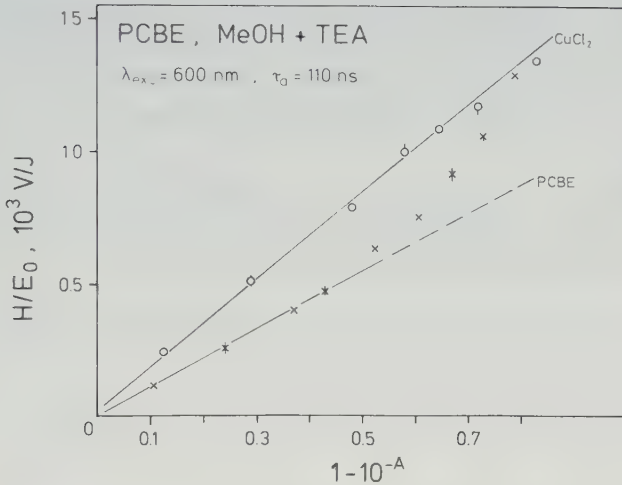


Abb. III.43: Konzentrationsabhängigkeit der α -Werte bei Anregung ($\lambda^{\text{exc}} = 600 \text{ nm}$) von PCBE in MeOH + 10 mM TEA.

Mit Hilfe der zeitaufgelösten OAS, bei der die akustische Transitzeit τ_a variiert wird, kann die Lebensdauer eines Energie-speichernden Transienten, in diesem Fall des Photoisomers, bestimmt werden⁹⁸. Unter der Annahme, daß die gesamte Anregungs-Energie E_{exc} durch strahlungslose Relaxationsprozesse frei wird (andere Prozesse können bei PCBE wegen ihrer kleinen Ausbeuten vernachlässigt werden, s.o.), läßt sich E_{exc} als Summe von "prompter" Wärme ($\alpha \cdot E_{\text{exc}}$) und der im Transienten (mit der Lebensdauer τ_{Tr}) gespeicherten Energie ($\Phi_{\text{Tr}} \cdot E_{\text{Tr}}$, mit Φ_{Tr} = Quantenausbeute der Transienten-Bildung und E_{Tr} = Energie des Transienten) beschreiben. Bei der zeitabhängigen Messung der abgegebenen Wärme lassen sich zwei Extremfälle unterscheiden:

1. Für $\tau_a \gg \tau_{\text{Tr}}$ trägt die gesamte im Transienten gespeicherte Energie zur "prompten" Wärmeabgabe bei, d.h. $\alpha = 1$.
2. Für $\tau_a \ll \tau_{\text{Tr}}$ erreicht α den sog. α_{min} -Wert, der nur schnelle Prozesse (IC, ISC) beinhaltet, d.h.

$$\alpha_{\text{min}} = 1 - \Phi_{\text{Tr}} \cdot \frac{E_{\text{Tr}}}{E_{\text{exc}}}$$

Dazwischen, also für $\tau_a \approx \tau_{Tr}$, trägt ein Teil des Zerfalls des Transienten zur "prompten" Wärme bei. $1 - \alpha$ entspricht dem Energie-Anteil, der für eine Zeit größer als τ_a im System gespeichert ist, und zeigt eine exponentielle Abhängigkeit von τ_a^{98} :

$$-\ln(1 - \alpha) = \tau_a / \tau_{Tr} - \ln(1 - \alpha_{min}) \quad \text{III.18}$$

Aus der Steigung der Werte von $-\ln(1 - \alpha)$ in Abhängigkeit von τ_a konnte die Lebensdauer des Photoisomers bestimmt werden zu 170 ± 20 ns für die neutrale PCBE-Form (Abb. III.44) und 160 ± 30 ns für die protonierte Form, $\text{PCBE} \cdot \text{H}^+$.

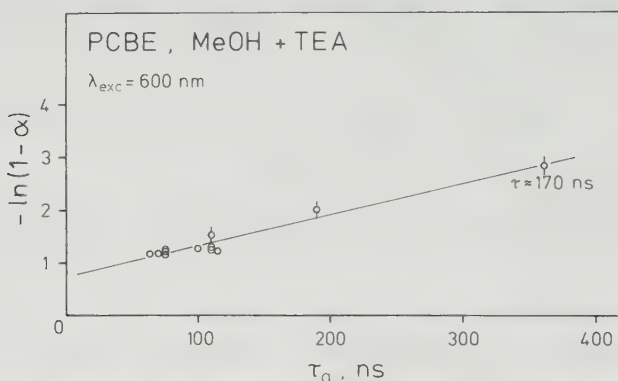


Abb. III.44: τ_a -abhängige Messung des α -Wertes bei Anregung ($\lambda^{exc} = 600$ nm) von PCBE in MeOH + 10 mM TEA.

Aus dem Ordinatenabschnitt ($= 0.72 \pm 0.08$) läßt sich die Quantenausbeute der Bildung dieses Photoisomers Φ_I ($\hat{=} \Phi_{Tr} = (1 - \alpha_{min}) \cdot E_{exc} / E_{Tr}$) abschätzen, wobei $E_{Tr} \leq E_{\text{PCBE}^*}$ sein muß. Mit $E_{exc} = N_A \cdot h \cdot \nu^{exc}$ und $E_{\text{PCBE}^*} = N_A \cdot h \cdot \nu^{0-0}$ konnte mit $\lambda^{exc} = 600$ nm und $\lambda^{0-0} = 626$ nm (vgl. Fluoreszenzspektren Abb. III.36) die Quantenausbeute zu $\Phi_I(\text{neutral}) \geq 0.51 \pm 0.04$ abgeschätzt werden. Analog ließ sich diese Quantenausbeute auch für $\text{PCBE} \cdot \text{H}^+$ aus dem Ordinatenabschnitt ($= 0.8 \pm 0.1$) mit Hilfe von $\lambda^{exc} = 690$ nm und $\lambda^{0-0} = 733$ nm (aus Fluoreszenzspektren) abschätzen zu $\Phi_I(\text{sauer}) \geq 0.48 \pm 0.06$.

Bei längeren Transitzeiten ($\tau_a \geq 400$ ns) wurde ein α -Wert von 1 beobachtet. Dieses führte zu dem Schluß, daß auch die E $\rightarrow$ Z-Isomerisierung der 3,3'-Doppelbindung, die zu einem stabilen Endprodukt führt (Kap. III.2 und Lit. 68), mit der OAS nicht beobachtet

werden konnte, da entweder die Quantenausbeute der Reaktion zu klein war oder die beiden Grundzustand-Energieniveaus der E- und Z-Isomeren energetisch zu nahe beieinander lagen. Die Vermutung liegt nahe, daß es sich bei der mit kurzen Transitzeiten beobachteten Energiespeicherung um eine thermisch reversible Isomerisierung der exocyclischen Doppelbindung an einer Methinbrücke handelt.

III.3.2.2. (3'S)-3,3'-Dihydro-3'-thioethoxy-phycoerythrin

Bei den analog durchgeführten OAS-Messungen an TEPCBE (22b) in neutralem MeOH (+ 10 mM TEA) konnte man wie beim PCBE eine Wellenlängenabhängigkeit der α -Werte beobachten, die zwischen 0.8 und 1.0 lagen. Die kleinsten Werte wurden auch hier im Bereich des Absorptionsmaximums gemessen, die größten in den Flanken (Tab. III.6).

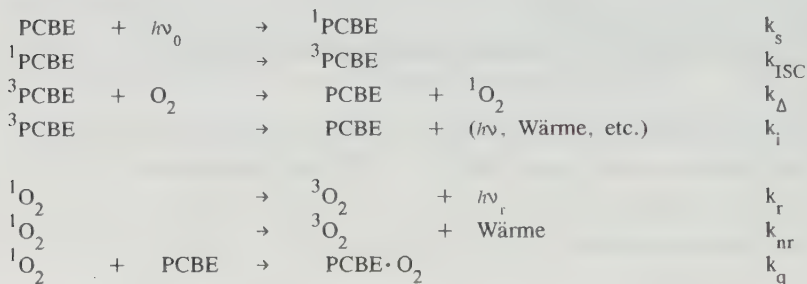
Tabelle III.6: Wellenlängenabhängigkeit der α -Werte bei Messung von TEPCBE in MeOH + 10 mM TEA.

λ^{exc} , nm	α -Wert
550	1.00
585	0.80
620	0.82
630	0.99

Dieses kann ebenfalls mit dem Vorliegen von TEPCBE in verschiedenen Spezies (vgl. Abb. III.39) korreliert werden, wobei auch hier offenbar die gestreckte Form für die Energiespeicherung verantwortlich ist. Bei der konzentrationsabhängigen Messung wurde kein Anstieg des α -Wertes auf 1.0 festgestellt, was mit dem untersuchten Konzentrationsbereich (4-50 μM) erklärt werden kann. Aus dem α -Wert von 1.0 ($\lambda^{\text{exc}} = 580 \text{ nm}$) für längere Transitzeiten ($\tau_a \geq 250 \text{ ns}$) kann man auch hier ausschließen, daß innerhalb der Nachweisgrenze der OAS die Bildung stabiler Endprodukte beobachtet wurde. Somit wurde analog zu PCBE für TEPCBE eine thermisch reversible Photoisomerisierung angenommen, die von der gestreckten Form durchgeführt wird.

III.3.3. PCBE als Sensibilisator und Löscher für molekularen Singulett-Sauerstoff

Da die beobachtete Photooxidation von PCBE über molekularen Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$) verläuft (vgl. Kap. III.2.1.1.), muß PCBE dabei sowohl als dessen Sensibilisator als auch als dessen Löscher dienen. Die dabei auftretenden physikalischen Prozesse lassen sich wie folgt beschreiben:



Schema III.6: Rechts sind die Geschwindigkeitskonstanten k der einzelnen Schritte angegeben, die Indizes bedeuten dabei: s = Absorption und Singulett-Bildung, ISC = Intersystem Crossing, Δ = Bildung von $^1\text{O}_2$, i = Desaktivierung von $^3\text{PCBE}$ (außer durch O_2), r = strahlender Zerfall von $^1\text{O}_2$, nr = strahlungsloser Zerfall von $^1\text{O}_2$ (dabei ist $k_r + k_{\text{nr}} = k_{\text{D}}$, mit k_{D} = Löschung von $^1\text{O}_2$ durch das Lösungsmittel), q = Löschung von $^1\text{O}_2$ durch PCBE.

In diesem Kapitel wurden nun die Prozesse näher untersucht, die

1. einen direkten Beweis für die Sensibilisierung von $^1\text{O}_2$ durch PCBE liefern und
2. die Geschwindigkeitskonstanten der Einzelschritte, an denen PCBE beteiligt ist, bestimmen lassen.

III.3.3.1. Abschätzung der Triplettquantenausbeute

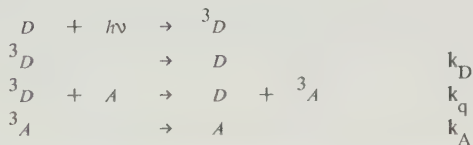
Aufgrund der beobachteten Photooxidation wurde vermutet, daß die Triplettquantenausbeute Φ_{T} von PCBE höher ist als die anderer Bilatriene ($\Phi_{\text{T}} \leq 10^{-3}$)⁶⁷.

Um Φ_{T} zu messen oder zumindest ihre Größenordnung abschätzen zu können, wurde die Blitzlicht-Photolyse benutzt. Zur Charakterisierung des Triplets sollte dieses zunächst in hoher Konzentration durch einen Triplett-Sensibilisator erzeugt werden - analog zu der in der Literatur beschriebenen Sensibilisierung des Triplets von Biliverdin⁶⁷.

Als Sensibilisator wurde Anthracen benutzt, das mit Licht der Wellenlänge $\lambda^{exc} = 308 \text{ nm}$ angeregt wurde. Dabei wurde beobachtet, daß

1. das Anthracen-Triplett fast vollständig durch PCBE gelöscht wurde,
2. die Lebensdauer des PCBE-Triplets bei RT sehr kurz war ($\tau \approx 10 \text{ } \mu\text{s}$), was die Detektion ohne Sensibilisator noch erschweren sollte, und
3. das Maximum der Absorptionsdifferenz und somit das größte Signal bei der Beobachtungswellenlänge $\lambda = 400 \text{ nm}$ liegt.

Deshalb wurde diese Beobachtungswellenlänge gewählt, um das PCBE-Triplett direkt - also ohne Sensibilisierung - zu detektieren. Da aber kein Signal bei der PCBE-Lösung ($50 \text{ } \mu\text{M}$, Lösung a) gemessen werden konnte, wurde versucht, eine Abschätzung der maximalen Triplett-Quantenausbeute durch Berechnung des molaren dekadischen Absorptionskoeffizienten ϵ des PCBE-Triplets mit Hilfe der Energie-Transfer-Methode⁹⁹ zu erreichen. Bei dieser Methode nutzt man die Tatsache aus, daß eine Donor-Substanz *D* nach Anregung in den Triplettzustand ihre Energie durch Stoß auf eine andere, in der Lösung befindliche Akzeptor-Substanz *A* überträgt, wodurch diese in den Triplettzustand übergeht (Schema III.7).



Schema III.7: Rechts sind die Geschwindigkeitskonstanten *k* der einzelnen Schritte angegeben, die Indizes bedeuten dabei: **D** = Zerfall des Donor-Triplets, **A** = Zerfall des Akzeptor-Triplets, **q** = Löschung von 3D durch *A*

Das Donor-Triplett muß dabei mind. $8\text{-}12 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ energiereicher sein als das Akzeptor-Triplett¹⁰⁰. Mit der Annahme, daß jeder Stoß erfolgreich ist, entsteht aus einem Donor-Triplett genau ein Akzeptor-Triplett, so daß die Endkonzentration des Akzeptor-Triplets der Anfangskonzentration des Donor-Triplets entspricht, d.h.:

$$c_D^{t=0} = c_A^{t=\infty}.$$

Mit $A = c \cdot \epsilon \cdot d$ erhält man

$$\frac{A_D^*}{\epsilon_D^*} = \frac{A_A^*}{\epsilon_A^*} .$$

Da die Differenz $\Delta A = A^* - A^0$ gemessen wird, und unter der Annahme, daß der Grundzustand bei dieser Wellenlänge nicht absorbiert, d.h.:

$$A_D^* = \Delta A_D^{t=0} \quad \text{und} \quad A_A^* = \Delta A_A^{t=\infty} .$$

erhält man

$$\epsilon_A^* = \epsilon_D^* (\Delta A_A^{t=\infty} / \Delta A_D^{t=0}) . \quad \text{III.19}$$

In der Regel zerfällt aber sowohl das Donor- als auch das Akzeptor-Triplett in entgaster Lösung durch strahlungslose Prozesse, so daß die Effizienz der Bildung von 3A aus 3D nicht 100% (ideal) ist, sondern kleiner. Ausgehend von Schema III.7 erhält man einen Faktor f:

$$f = \frac{k_q \cdot [A]}{k_D + k_q \cdot [A] - k_A} , \quad \text{III.20}$$

um den die Akzeptorkonzentration reduziert wird ($c_A = c_D \cdot f$) und um den Gleichung III.19 korrigiert werden muß, so daß gilt:

$$\epsilon_A^* = \epsilon_D^* (\Delta A_A^{t=\infty} / \Delta A_D^{t=0}) \cdot \frac{1}{f} . \quad \text{III.21}$$

Zur Berechnung von f benötigt man die Werte von k_q , k_A und k_D . Um k_D zu erhalten, muß man den Zerfall des Donor-Triplets in Abwesenheit des Akzeptors bei λ_D (Abb. III.45.a) messen $\rightarrow \tau = 1/k_D$. Durch Zugabe des Akzeptors beobachtet man (bei λ_D) die zusätzliche Löschung des Donor-Triplets, so daß nun der Zerfall durch den Term $k_D + k_q[A]$ beschrieben wird (Abb. III.45.b). k_A erhält man analog zu k_D durch Messung des Zerfalls des Akzeptor-Triplets bei λ_A (Abb. III.46).

Zur Bestimmung des Quotienten $(\Delta A_A^{t=\infty} / \Delta A_D^{t=0})$ benötigt man die für den Donor zur Zeit $t=0$ extrapolierte Differenz in der Absorption und für den Akzeptor die zur Zeit $t=\infty$ extrapolierte Differenz. ΔA entspricht der Amplitude a des Meßsignals, die durch eine Zerfallsfunktion der Donor- bzw. Akzeptor-Triplett-Konzentration beschrieben wird:

$$\begin{aligned} a_D &= \epsilon_D^* \cdot d \cdot [^3D] \\ a_A &= \epsilon_A^* \cdot d \cdot [^3A] \end{aligned}$$

Dadurch läßt sich die Amplitude zum Zeitpunkt $t=0$, bzw. $t=\infty$ bestimmen. Der Zerfall des Donor-Tripletts wird durch Gleichung III.22, der Zerfall des Akzeptor-Tripletts durch Gleichung III.23 beschrieben.

$$[^3D] = [^3D]_0 \cdot e^{-(k_D + k_q \cdot [A]) t} \quad \text{III.22}$$

$$[^3A] = [^3D]_0 \cdot \underbrace{\frac{k_q \cdot [A]}{k_D + k_q \cdot [A] - k_A}}_K \cdot \left(e^{-k_A t} - e^{-(k_D + k_q \cdot [A]) t} \right) \quad \text{III.23}$$

Da sich beim Akzeptor der Zerfallsterm bereits im Anstieg der Konzentration auswirkt, wird bei der Extrapolation für $t \rightarrow \infty$ zunächst $k_A = 0$ gesetzt. Man erhält dann für $\Delta A_A^{t \rightarrow \infty}$ den Koeffizienten K der Gleichung III.23, der dem Faktor f (Gl. III.20) entspricht. Somit kann der Absorptionskoeffizient des Akzeptor-Tripletts durch Einsetzen der erhaltenen Werte in Gleichung III.21 berechnet werden.

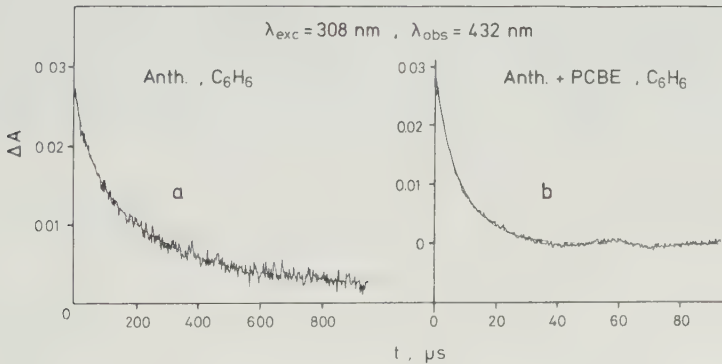


Abb. III.45: Blitzlicht-Photolyse-Signal ($\lambda_{\text{exc}} = 308 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{obs}} = 432 \text{ nm}$) von Anthracen ($320 \mu\text{M}$) in Benzol (a), + PCBE ($50 \mu\text{M}$) (b).

Zur Untersuchung des Systems Anthracen/PCBE wurde eine Lösung von Anthracen in Benzol (320 μM) sowohl ohne (Lösung b) als auch mit PCBE (50 μM , Lösung c) mit der Beobachtungswellenlänge $\lambda^{\text{obs}} = 432 \text{ nm}$ (dort ist die maximale Triplet-Absorption von Anthracen $\hat{=} \lambda_D$) gemessen (Abb. III.45) und Lösung c noch zusätzlich mit den Beobachtungswellenlängen (λ_A) $\lambda^{\text{obs}} = 400$ und 700 nm (Abb. III.46).

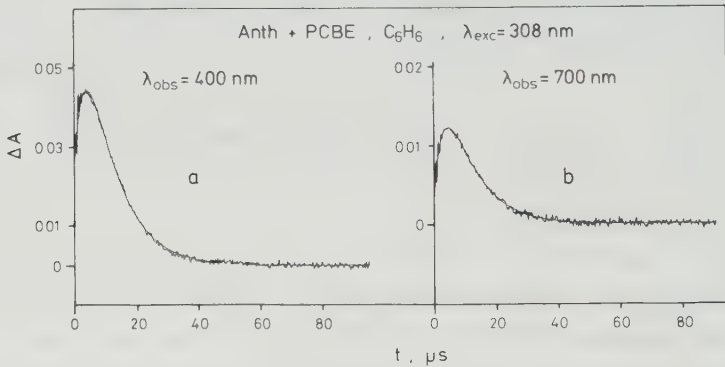


Abb. III.46: Blitzlicht-Photolyse-Signale ($\lambda^{\text{exc}} = 308 \text{ nm}$) von PCBE (50 μM) + Anthracen (320 μM) in Benzol bei verschiedenen Beobachtungswellenlängen: $\lambda^{\text{obs}} = 400 \text{ nm}$ (a) und 700 nm (b).

Da das PCBE-Triplett auch bei 432 nm absorbiert, beobachtet man dort statt des erwarteten monoexponentiellen Zerfalls einen biexponentiellen, wobei die zweite Lebenszeit dem Zerfall des PCBE-Tripletts entspricht ($\tau_2 = 1/k_A$). Dieses stört nicht die Bestimmung der Amplitude zum Zeitpunkt $t=0$, da zu dieser Zeit noch kein PCBE-Triplett vorhanden ist, d.h. $[^3A]_{t=0} = 0$ (vgl. Gleichung III.23).

Aus den Messungen ließen sich die Absorptionskoeffizienten des PCBE-Tripletts bei den Wellenlängen 400 und 700 nm sowie die Geschwindigkeitskonstante für die Löschung des Anthracen-Tripletts durch PCBE wie folgt bestimmen:

Bei der Auswertung der Daten mußte berücksichtigt werden, daß die Signale aus meßtechnischen Gründen nicht zur Zeit $t=0$, sondern nur zeitverschoben (Δt) gemessen werden konnten. Deshalb lieferte die jeweilige Anpassung an die Meßkurve die Koeffizienten zu einer Zeit $t' = t - \Delta t$ (mit $\Delta t < 0$), so daß man aus der erhaltenen Funktion

$$a_{t'} = K_1' \cdot e^{-k_1 t'} + K_2' \cdot e^{-k_2 t'} + K_0 \quad \text{III.24}$$

extrapolieren muß auf den Zeitpunkt $t=0$. Mit $t' = t - \Delta t$ wird daraus Gleichung III.25:

$$a_t = \underbrace{K_1^{t'} \cdot e^{k_1 \Delta t}}_{= K_1^{t=0}} \cdot e^{-k_1 t} + \underbrace{K_2^{t'} \cdot e^{k_2 \Delta t}}_{= K_2^{t=0}} \cdot e^{-k_2 t} + K_0 \quad \text{III.25}$$

Somit erhielt man die folgenden Ergebnisse:

Bei Messung der Lösung b mit $\lambda^{\text{obs}} = 432 \text{ nm}$ (Abb. III.45.a) beobachtete man statt des erwarteten monoexponentiellen einen biexponentiellen Zerfall mit den Lebenszeiten $55 \mu\text{s}$ und $280 \mu\text{s}$, wobei angenommen wurde, daß die kürzere Lebenszeit durch Triplett-Triplett- oder Grundzustand-Triplett-Löschung bewirkt wurde. Die für das untersuchte System gültige Geschwindigkeitskonstante für den Zerfall des Anthracen-Triplets ergibt sich dann zu:

$$k_D = \frac{1}{t} = \frac{1}{55 \mu\text{s}} = 1.8 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$$

Bei Messung der Lösung c (vgl. Abb. III.45.b und III.46) erhielt man die folgenden Koeffizienten und Lebenszeiten (Tab. III.7), wobei sich $\tau_1 = 1/k_1$, $\tau_2 = 1/k_2$, $K_1^{t'}$ und $K_2^{t'}$ aus der gemessenen Funktion III.24 und $K_1^{t=0}$, $K_2^{t=0}$ aus der berechneten Funktion III.25 ergeben. Die positiven Koeffizienten beschreiben den Zerfall einer Spezies, die negativen dagegen deren Entstehung.

Tabelle III.7: Berechnung der Funktion III.25.

Abb.	λ^{obs} nm	τ_1 μs	$K_1^{t'}$ $\cdot 10^2$	τ_2 μs	$K_2^{t'}$ $\cdot 10^2$	K_0 $\cdot 10^2$	$K_1^{t=0}$ $\cdot 10^2$	$K_2^{t=0}$ $\cdot 10^2$	Δt μs
44.b	432	3.96	0.626	10.05	2.23	-0.017	0.81	2.46	1
45.a	400	3.37	-8.01	9.38	10.55	$5.9 \cdot 10^{-3}$	-9.29	11.13	0.5
45.b	700	3.21	-2.68	9.28	3.08	$8.8 \cdot 10^{-4}$	-3.13	3.25	0.5

Daraus ergibt sich nun für Anthracen

$$a_D^{t=0} = 3.27$$

und für PCBE mit $a_A^\lambda = K_1^{t=0}(\lambda) = K_2^{t=0}(\lambda)$ (vgl. S. 94f) ergibt sich

$$\begin{aligned} a_A^{400} &= 11.13 \cdot 10^{-2} \\ a_A^{700} &= 3.19 \cdot 10^{-2} \end{aligned}$$

wobei für a_A^{700} der Mittelwert von $K_1^{t=0}$ und $K_2^{t=0}$ benutzt wurde und für a_A^{400} der $K_2^{t=0}$ -Wert, da $K_1^{t=0}$ durch die bei 400 nm vorhandene Absorption von Anthracen verfälscht ist.

Zur Berechnung der Absorptionskoeffizienten von $^3\text{PCBE}$ nach der Gleichung

$$\epsilon_A^*(\lambda) = \frac{a_A^\lambda}{a_A^{t=0}} \cdot \epsilon_D^*(432) \cdot \frac{1}{f} \quad \text{III.26}$$

benutzte man für ϵ_D^* den in der Literatur¹⁰¹ angegebenen Wert für das Anthracen-Triplett:

$$\epsilon_D^*(432 \text{ nm}) = 45500 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

Der Faktor f (Gleichung III.20) wurde berechnet aus den gemessenen Lebenszeiten, mit:

$$k_A = \frac{1}{\tau_2} = \frac{1}{(9.6 \pm 0.4) \mu\text{s}} = (1.04 \pm 0.04) \cdot 10^5 \text{ s}^{-1} \quad \text{und}$$

$$k_D + k_q[A] = \frac{1}{\tau_1} = \frac{1}{(3.5 \pm 0.5) \mu\text{s}} = (2.9 \pm 0.4) \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}$$

$$\Rightarrow k_q[A] = (2.7 \pm 0.4) \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}, \quad \text{mit } [A] = 50 \mu\text{M}$$

$$\Rightarrow k_q = (5.4 \pm 0.8) \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$$

Daraus ergibt sich für f :

$$f = 1.43 \pm 0.21$$

Einsetzen der Werte in Gleichung III.26 liefert die beiden Absorptionskoeffizienten

$$\begin{aligned} \epsilon^*(700 \text{ nm}) &= (3.1 \pm 0.5) \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \\ \epsilon^*(400 \text{ nm}) &= (10.8 \pm 1.8) \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \end{aligned}$$

Dabei ging man von der Annahme aus, daß der Grundzustand von PCBE nicht bei dieser Wellenlänge absorbiert. Da dieses aber nicht der Fall ist, müssen die Werte noch um die Absorptionskoeffizienten des Grundzustands korrigiert werden.

Da $\epsilon_A = \epsilon_A^* - \epsilon_A^0$ (vgl. S. 94), erhält man mit

$$\begin{aligned}\epsilon_{\text{PCBE}}^0(700) &= 1440 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \\ \epsilon_{\text{PCBE}}^0(400) &= 9700 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}\end{aligned}$$

die molaren dekadischen Absorptionskoeffizienten von Triplett-PCBE:

$$\begin{aligned}\epsilon_{\text{PCBE}}^*(700) &= (3.2 \pm 0.5) \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \\ \epsilon_{\text{PCBE}}^*(400) &= (11.8 \pm 1.9) \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \quad ,\end{aligned}$$

wobei diese gut innerhalb der angegebenen Fehlergrenzen der zuerst berechneten liegen.

Bei der direkten Anregung von PCBE (vgl. S. 93) konnte das Triplett zwar nicht beobachtet werden, aber mit der Kenntnis der Meßempfindlichkeit, d.h.:

$$\Delta A_{400} \geq 10^{-3}$$

und mit den Absorptionkoeffizienten des Grund- und Triplett-Zustands erhält man eine $^3\text{PCBE}$ -Konzentration von

$$[^3\text{PCBE}] \leq 9.3 \cdot 10^{-9} \text{ M} \quad .$$

Nimmt man an, daß alle in der Lösung vorhandenen Moleküle angeregt wurden, so ist die absorbierte Photonenzahl I_a

$$I_a = 50 \mu\text{M} \quad ,$$

und es ergibt sich die Triplett-Quantenausbeute zu

$$\Phi_T \leq 2 \cdot 10^{-4} \quad .$$

Die Triplett-Quantenausbeute von PCBE ist also nicht (wie angenommen) größer als die von BVE. Man kann jedoch die Energie des PCBE-Tripletts abschätzen auf

$$100 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \leq E(^3\text{PCBE}) \leq 170 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \quad .$$

unter der Voraussetzung, daß die Geschwindigkeitskonstante für den Löschprozeß vom PCBE-Triplett durch Sauerstoff (k_A) in der Größenordnung der diffusionskontrollierten

Löschung liegt. Ist das nicht der Fall (also $k_{\Delta} \ll k_{\text{diff}}$), dann könnte die Energie von $^1\text{O}_2$ ($\approx 94 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)⁶⁷ höher liegen als die des PCBE-Tripletts. Diese läge somit in der Nähe des BVE-Tripletts, dessen Energie auf $\approx 90 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ abgeschätzt wurde⁶⁷. k_{Δ} konnte nicht bestimmt werden, da man dafür das PCBE-Triplett nach Anregung seines Grundzustands hätte detektieren müssen. Dieses war jedoch wie schon erwähnt (S. 93) nicht möglich.

Es kann also nur die obere Grenze angegeben werden, die durch die Energie des Anthracen-Tripletts ($176 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)¹⁰² festgelegt ist.

III.3.3.2. Messung der Singulett-Sauerstoff-Lumineszenz

Die Desaktivierung von molekularem Singulett-Sauerstoff erfolgt sowohl durch strahlungslose als auch durch strahlende Prozesse (vgl. Schema III.6). Für die $^1\Delta_g$ -Lumineszenz bestehen zwei Möglichkeiten¹⁰³: die direkte Emission bei 1270 nm und die sog. "dimolare" Lumineszenz bei 634.7 nm, wobei die letztere in einem Wellenlängenbereich liegt, in dem auch andere angeregte Moleküle Licht emittieren. Deshalb ist nur die Lumineszenz bei 1270 nm spezifisch für $^1\text{O}_2$ und kann, obwohl sie sehr schwach ist, sowohl stationär¹⁰⁴ (a) als auch zeitaufgelöst⁷² (b) detektiert werden.

Die Messung der $^1\text{O}_2$ -Lumineszenz nach Anregung einer sauerstoffhaltigen PCBE-Lösung liefert also den Beweis, daß PCBE ein Singulett-Sauerstoff-Sensibilisator ist.

a) Stationäre Messung

Falls ein $^1\text{O}_2$ -Sensibilisator auch gleichzeitig ein $^1\text{O}_2$ -Löcher ist (wie PCBE), dann ist die Amplitude des Lumineszenz-Signals nicht linear abhängig von der Konzentration des Sensibilisators: Mit steigender Konzentration beobachtet man einen Anstieg der Amplitude, die nach Erreichen eines Maximums wieder abfällt. Die optimale Konzentration für die maximale Signalamplitude ist abhängig von Φ_{Δ} ($\Phi_{\Delta} = \Phi_{\text{T}} \cdot S_{\Delta}$, mit $S_{\Delta} = k_{\Delta} / (k_{\Delta} + \sum_i k_i)$), vgl. Schema III.6), k_q und τ_{Δ} im jeweiligen Lösungsmittel.

Da bei PCBE Φ_{T} und somit auch Φ_{Δ} sehr klein ($\Phi_{\text{T}} \approx 10^{-4}$, vgl. Kap. III.3.3.1) und zusätzlich k_q ($k_q = 3.4 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, vgl. Kap. III.3.3.3) sehr groß ist, sollte eine 5-10

μM Lösung in Tetrachlorkohlenstoff ($\tau_{\Delta} = 26\text{ ms}$)¹⁰⁵ am besten dafür geeignet sein. Es wurden zwei Meßreihen durchgeführt, eine im neutralen und die andere im sauren Lösungsmittel. Die jeweiligen Blindproben (entgaste Lösung bzw. Lösung mit TEA - 0.2 M - als $^1\text{O}_2$ -Löscher¹⁰⁶ mit $k_q = 10^6\text{-}10^7\text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) zeigten bei Anregung ($\lambda^{\text{exc}} > 475\text{ nm}$) erwartungsgemäß keine Lumineszenz bei 1270 nm ($\blacktriangle$, Abb. III.47). Die zu

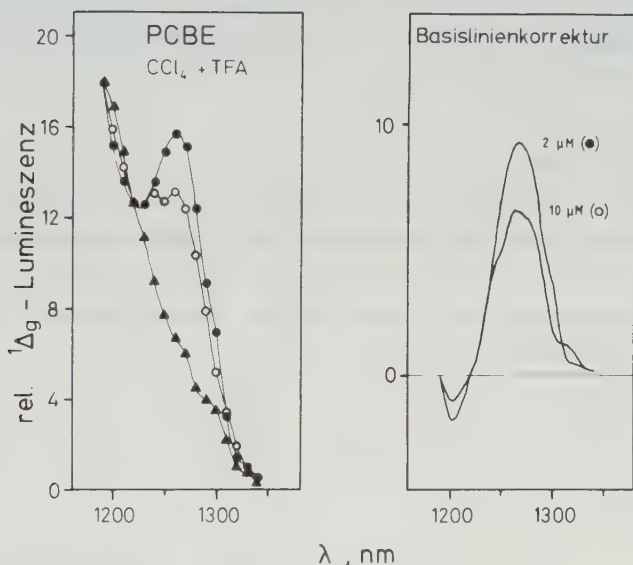


Abb. III.47: Statische $^1\text{O}_2$ -Lumineszenz bei Anregung von PCBE (● 2 μM , ○ 10 μM) in CCl_4 + 10 mM TFA, ▲ Basislinie.

kürzeren Wellenlängen ansteigende Nulllinie wurde der Lumineszenz von PCBE zugeschrieben und erschwerte die Detektion der $^1\text{O}_2$ -Lumineszenz. Es wurden luftgesättigte Proben gemessen, wobei für die saure Lösung Tetrachlorkohlenstoff (CCl_4) mit TFA (10 mM) und für die neutrale Lösung deuteriertes Benzol ($\tau_{\Delta} = 830\text{ }\mu\text{s}$)¹⁰⁷ gewählt wurde, da bei Anregung von PCBE in neutralem CCl_4 eine starke Bleichung ($> 30\%$) beobachtet wurde - bei den anderen Lösungen wurde nach der Messung nur eine Bleichung $< 5\%$ beobachtet. Die Anregung von PCBE (10 μM) in saurem CCl_4 führte zu einer Lumineszenz bei 1270 nm, deren Amplitude bei Verdünnung (2 μM) größer wurde (Abb. III.47). Dieses ließ sich mit der $^1\text{O}_2$ -Löschung durch PCBE erklären.

Einen Anstieg der Lumineszenz konnte man ebenfalls bei Erhöhung der Säurekonzentration (0.01-10 mM) beobachten, was auf eine kleinere Löschkonstante des protonierten Moleküls, $\text{PCBE} \cdot \text{H}^+$, zurückgeführt wurde. Die Bestimmung beider Löschkonstanten (vgl. Kap. III.3.3.3) bestätigte diese Vermutung.

Weder im neutralen (3.2 bzw. $5.1 \cdot 10^{-6}$ M) noch sauren (+ TFA) Benzol konnte eine $^1\text{O}_2$ -Lumineszenz gemessen werden, was man mit der in Benzol kleineren $^1\text{O}_2$ -Lebensdauer erklären kann, so daß die resultierende $^1\text{O}_2$ -Konzentration in Benzol unterhalb der Nachweisgrenze liegt.

b) Zeitaufgelöste Messung

Zur Überprüfung, ob PCBE auch im neutralen Lösungsmittel ein $^1\text{O}_2$ -Sensibilisator ist, wurden Messungen in Benzol und 1,3-Dibrombenzol (1,3-DBB) durchgeführt. Nach Beendigung der Experimente wurde nur eine geringfügige Bleichung ($< 5\%$) der Probe festgestellt. Die Lumineszenz-Zerfälle wurden mit einer monoexponentiellen Funktion angepaßt, die die $^1\text{O}_2$ -Lebensdauer τ_{Δ} lieferte.

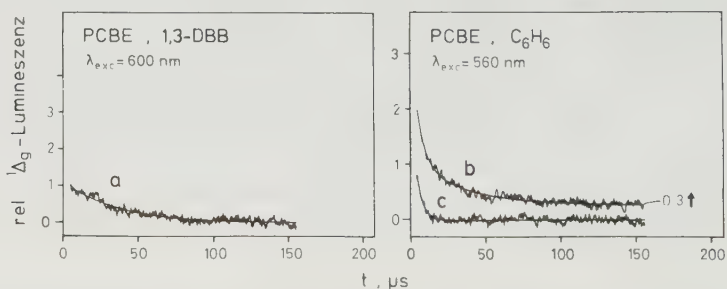


Abb. III.48: Zeitaufgelöste Signale der $^1\text{O}_2$ -Lumineszenz bei Anregung von PCBE in 1,3-DBB (a), und in Benzol (b) mit Zusatz von trans- β -Carotin (c).

Die Anregung ($\lambda^{\text{exc}} = 600$ nm) der reinen Lösungsmittel führte erwartungsgemäß zu keiner Lumineszenz. Bei der Anregung von PCBE konnte sowohl in Benzol ($1.3 \cdot 10^{-5}$ M, $\lambda^{\text{exc}} = 560$ nm) als auch in 1,3 DBB ($1.1 \cdot 10^{-5}$ M, $\lambda^{\text{exc}} = 600$ nm) der Zerfall von $^1\text{O}_2$ ($\tau_{\Delta} = 35$ bzw. 33 μs) beobachtet werden (Abb. III.48), wobei jedoch die Signal-Amplitude bei der Benzol-Lösung (Abb. III.48.b) kleiner war. Deshalb wurde zur Überprüfung trans- β -Carotin (5 μM) als $^1\text{O}_2$ -Löcher ($k_q = 2.5 \cdot 10^{10}$ $\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)¹⁰⁸ zugegeben (Abb. III.48.c). Die Lebensdauer verkürzte sich auf 4.2 μs , was gut mit der

für diese Löscherkonzentration berechneten von $6.3 \mu\text{s}$ übereinstimmt.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß PCBE auch ein $^1\text{O}_2$ -Löcher ist ($k_q(\text{neutral}) = 3.4 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, Kap. III.3.3.3), kann man ausgehend von Schema III.6 die $^1\text{O}_2$ -Konzentration durch Gleichung III.27 und die entsprechende Lebensdauer τ_Δ durch Gleichung III.28 beschreiben.

$$\text{III.27} \quad [^1\text{O}_2] = [^1\text{O}_2]_0 \cdot e^{-(k_D + k_q \cdot [\text{PCBE}])t}$$

k_D = Geschwindigkeitskonstante für diffusionskontrollierte Löschung durch das Lösungsmittel
 k_q = Geschwindigkeitskonstante für Löschung durch PCBE

$$\text{III.28} \quad 1/\tau_\Delta = 1/\tau_\Delta^0 + k_q \cdot [\text{PCBE}]$$

τ_Δ^0 = Lebensdauer von $^1\text{O}_2$ ohne Löcher

Daraus lassen sich die Lebensdauern von $^1\text{O}_2$ für diese Systeme berechnen (Tab. III.8).

Tabelle III.8

	τ_Δ^{Lit}	$[\text{PCBE}], \text{M}^{-1}$	$k_q, \text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	τ_Δ^{ber}	τ_Δ^{exp}
1,3-DBB	$60 \mu\text{s}^{107}$	$1.1 \cdot 10^{-5}$	$3.4 \cdot 10^8$	$49 \mu\text{s}$	$33 \pm 6 \mu\text{s}$
Benzol	$32 \mu\text{s}^{71}$	$1.3 \cdot 10^{-5}$	$3.4 \cdot 10^8$	$28 \mu\text{s}$	$35 \mu\text{s}$

Die Abweichung der experimentellen von den berechneten τ_Δ -Werten wird damit erklärt, daß die gemessenen Signale sehr klein waren und somit zu einem großen Fehler bei der τ_Δ -Bestimmung führten. Da die experimentellen Werte aber in derselben Größenordnung wie die berechneten Werte liegen und durch Zugabe eines $^1\text{O}_2$ -Löschers verkürzt werden, ist das Ergebnis dieser Messungen ein Beweis dafür, daß PCBE auch in neutraler Lösung ein $^1\text{O}_2$ -Sensibilisator ist.

III.3.3.3. Bestimmung der $^1\text{O}_2$ -Löschkonstanten von PCBE

Die Löschkonstanten wurden durch Messung von τ_Δ in Abhängigkeit von der Löcherkonzentration in Benzol- d_6 (neutrale Lösung) und in saurem CCl_4 (+ 10 mM TFA) bestimmt. Als $^1\text{O}_2$ -Sensibilisator wurde Tetraphenylporphyrin (TPP) für die neutrale und

Hematoporphyrin (HP) für die saure Lösung benutzt. Die Anregungswellenlänge war im Fall der neutralen Lösung $\lambda^{\text{exc}} = 420 \text{ nm}$ (dort ist das Absorptionsmaximum von TPP, PCBE hat dort ein Minimum, $\epsilon_{\text{TPP}}/\epsilon_{\text{PCBE}} \approx 100$), im Fall der sauren Lösung $\lambda^{\text{exc}} = 532 \text{ nm}$ ($\epsilon_{\text{HP}}/\epsilon_{\text{PCBE}} \approx 0.5$). Es wurden luftgesättigte Proben gemessen.

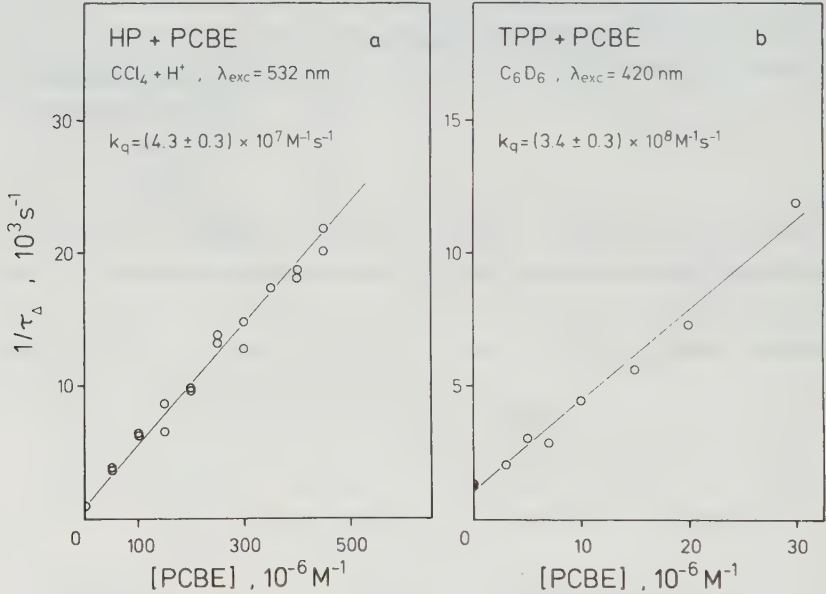


Abb. III.49: Stern-Volmer-Abhängigkeit, PCBE in saurem (a) und neutralem (b) Lösungsmittel

Trägt man nun in einer Stern-Volmer-Abhängigkeit $1/\tau_A$ gegen die jeweilige PCBE-Konzentration auf (Abb. III.49), dann erhält man mit Gleichung III.28 die Löschkonstanten k_q als Steigung der resultierenden Geraden. Als Ordinatenabschnitt erhält man den reziproken Wert der Lebensdauer von $^1\text{O}_2$ ohne Löscher (τ_A^0) in dem jeweiligen Lösungsmittel, was der Geschwindigkeitskonstanten k_D entspricht.

$$\begin{aligned} k_q(\text{neutral}) &= (3.4 \pm 0.3) \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \\ k_q(\text{sauer}) &= (4.3 \pm 0.3) \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \end{aligned}$$

Die Löschkonstante der neutralen PCBE-Form ist also größer als die der protonierten Form, wie bereits bei den stationären Messungen (Kap. III.3.3.2) vermutet.

III.3.4. Diskussion der Ergebnisse

Die Fluoreszenz-Messungen zeigten für alle untersuchten Substanzen (PCBE, TEPCBE, Photodimer 34) in Lösung ein Nebeneinander verschiedener Konformerer mit überwiegendem Anteil des helicalen, sowie eine Fluoreszenz-Quantenausbeute in der Größenordnung von 10^{-3} .

Mit der Optoakustik-Spektroskopie wurde für die untersuchten Substanzen (PCBE, TEPCBE) eine photoinduzierte Isomerisierung beobachtet, die jedoch zu keinem thermodynamisch stabilen Endprodukt führte. Dies konnte durch zeitaufgelöste Messungen und durch den Vergleich von PCBE mit TEPCBE gezeigt werden, da beim TEPCBE die 3,3'-Doppelbindung, deren Isomerisierung zu einem stabilen Endprodukt führte (Kap. III.2.1), nicht vorhanden ist. Die Wellenlängenabhängigkeit der prompten Wärmeentwicklung wurde mit einer unterschiedlichen Isomerisierungsfähigkeit der verschiedenen Spezies erklärt, wobei offensichtlich nur die gestreckte Form diese Fähigkeit besitzt. Dieses ging auch aus konzentrationsabhängigen OAS- und Fluoreszenz-Messungen hervor, da bei Konzentrationen, bei denen die Emissionsbande der gestreckten Form verschwand, auch keine Energiespeicherung durch Bildung eines Photoisomers mehr beobachtet werden konnte. Durch die zeitaufgelösten Messungen wurden die Lebensdauern der Photoisomeren von PCBE und $\text{PCBE} \cdot \text{H}^+$ zu $\tau(\text{neutral}) = 170 \pm 20 \text{ ns}$ und zu $\tau(\text{sauer}) = 160 \pm 30 \text{ ns}$ bestimmt, wobei zusätzlich die Quantenausbeuten für diese Prozesse zu $\Phi_{\text{I}}(\text{neutral}) \geq 0.51 \pm 0.04$ und $\Phi_{\text{I}}(\text{sauer}) \geq 0.48 \pm 0.06$ abgeschätzt werden konnten.

Diese Resultate führten zu den folgenden Überlegungen:

Es kommen für die Entstehung der Rotameren, sowie für die bei der OAS beobachtete Photoisomerisierung die Bindungen um C(10) und um C(5) in Frage - die Isomerisierung der 15,16-Doppelbindung führt zu einem stabilen Endprodukt^{14,15,109}. In Analogie zu BVE^{36,38} wurde postuliert, daß die Isomerisierung bzw. Rotation auch hier um C(10) erfolgt, wofür auch der Vergleich von PCBE mit dem Photodimer 34 spricht:

Da die Fluoreszenzmessungen eine Heterogenität (helicale und gestreckte Formen) auch von 34 in Lösung belegen, und dort eine Drehung um die C(5)-Einfachbindung aus sterischen Gründen - Behinderung der Drehung von Ring B durch Ring B' der anderen Molekülhälfte - nicht möglich ist, kann nur die Drehung um C(10) für diese Heterogenität

verantwortlich sein. Daraus kann man schließen, daß die Konformeren und Photoisomeren auch bei PCBE durch Drehung um C(10) entstehen.

Die Lichtanregung von PCBE führte neben diesen Isomerisierungsprozessen auch zur Bildung des Triplettts. Dieses konnte jedoch wegen seiner kleinen Quantenausbeute ($\Phi_T \approx 10^{-4}$) nicht direkt beobachtet werden, sondern nur durch Sensibilisierung (Kap. III.3.3.1), wodurch eine Abschätzung der PCBE-Triplett-Energie auf 90 - 170 kJ·mol⁻¹ ermöglicht wurde.

Einen Beweis für die direkte Bildung des Triplettts bei Anregung des Grundzustands erhielt man durch stationäre und zeitaufgelöste Messungen der Lumineszenz des durch PCBE sensibilisierten Singulett-Sauerstoff. Bei der stationären Detektion wurde ein Anstieg der Amplitude beim Ansäuern der Lösung festgestellt, der mit einer größeren Löschkonstanten von PCBE gegenüber PCBE·H⁺ für die ¹O₂-Löschung erklärt wurde. Die Löschkonstanten wurden durch Messung der ¹O₂-Lebensdauer in Abhängigkeit von der PCBE-Konzentration bestimmt, wobei die im neutralen Medium um den Faktor 10 größer war als die im sauren. Dieses kann auf die in neutraler und protonierter PCBE-Form unterschiedliche elektronische Situation zurückgeführt werden (vgl. Kap. III.2.1.3).

III.4. Vergleich mit den Ergebnissen von BVE

Wie BVE³⁶ liegt auch PCBE in Lösung bevorzugt (gegenüber gestreckten Formen) in der helicalen Form vor. Der unterschiedliche Sättigungsgrad von Ring A scheint also keine große Auswirkung auf die Konformation der Bilatriene in Lösung zu haben.

Auch die Lichtanregung führt im allgemeinen zu analogen Ergebnissen:

Die Fluoreszenz- ($\Phi_F(\text{PCBE}) = 3 \cdot 10^{-3}$, $\Phi_F(\text{BVE}) = 5 \cdot 10^{-4}$)³⁶ sowie die Triplett- ($\Phi_T \leq 2 \cdot 10^{-4}$) Quantenausbeuten haben ähnliche Größenordnungen. Auch der Anteil der thermisch reversiblen Photoisomerisierung - vermutlich der gestreckten Form um C(10) - an den Desaktivierungsprozessen ist ungefähr gleich groß, wobei die experimentellen Werte (PCBE: $\approx 50\%$, BVE: $\approx 50\%$)³⁴ nicht direkt miteinander verglichen werden können wegen der bei BVE noch nicht möglichen zeitaufgelösten OAS (Kap. III.3.2). Während für BVE die Existenz eines Triplettzustands bisher nur durch Sensibilisierung gezeigt worden war⁶⁷, konnte für PCBE auch die direkte Triplettbildung durch Messung der $^1\text{O}_2$ -Lumineszenz ($^3\text{PCBE}$ sensibilisiert $^1\text{O}_2$, Kap. III.3.3.2) sowie durch die Photooxidation vom Typ II (Kap. III.2.2) nachgewiesen werden. Diese verlief aufgrund der unterschiedlichen Löschkonstanten von PCBE und $\text{PCBE} \cdot \text{H}^+$ (vgl. Kap. III.3.3.3) im sauren Lösungsmittel langsamer als im neutralen.

Die Identifizierung der Photoprodukte zeigte, daß bei PCBE die 4,5-Doppelbindung die reaktivste Stelle hinsichtlich eines elektrophilen Angriffs ist. Die reaktivste Stelle hinsichtlich eines nukleophilen Angriffs ist dagegen die 3'-Position, was aus der Synthese der entsprechenden Derivate (TEPCBE, MePCBE, Kap. III.1) geschlossen wurde. Bei BVE ist C(10) die für einen nukleophilen Angriff empfindliche Stelle, was durch Methanol-Addition gezeigt werden konnte²⁷, während es gegenüber elektrophilen Reagenzien wie $^1\text{O}_2$ völlig unspezifisch reagiert, so daß Dipyrrole und Imide entstehen¹¹⁰. Für diese Photooxidation konnte bisher nur gezeigt werden, daß BVE ein $^1\text{O}_2$ -Löcher ist^{111,112}.

Die Untersuchung eines 3'-Derivats von PCBE (Kap. III.2.2, III.3.1.2 und III.3.2.2) zeigte, daß der Sättigungsgrad des Substituenten in der 3-Position keinen Einfluß auf die Eigenschaften des Ring A gesättigten Bilatriens hat. Die Unterschiede dieser Verbindungsklasse zum durchkonjugierten System sind also nur auf den Sättigungsgrad von Ring A zurückzuführen.

IV. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Modellsubstanzen für den Phytochrom-Chromophor synthetisiert und ihre photophysikalischen und photochemischen Eigenschaften untersucht.

Bei Biliverdin, das in Lösung in helicalen und gestreckten Konformeren vorliegt, wurde bereits in verdünnter Lösung ($\approx 10^{-5}$ M) eine Aggregation zu Dimeren mit fixierten Säure- bzw. Estergruppen festgestellt. Diese Fixierung verhinderte vermutlich die Synthese einer um die C(10)-Brücke starren Verbindung.

Phycocyanobilindimethylester zeigte ein Konformations-Verhalten in Lösung, das analog dem bereits bekannten des Biliverdindimethylesters ist. Auch hier überwog die helicale Form, bzw. war bei höherer Konzentration ($\geq 10^{-5}$ M) auch das Dimere gegenüber der gestreckten Form bevorzugt. Die Lichtanregung führte zu verschiedenen Desaktivierungsprozessen: zur prompten Wärmeabgabe (durch Internal Conversion oder Intersystem Crossing), zu einer kurzfristigen "Speicherung" der Energie nach Anregung der gestreckten Form, zur Fluoreszenz mit $\Phi_F \approx 10^{-3}$ und zur Triplettbildung mit $\Phi_T \approx 10^{-4}$, die in Verbindung mit O_2 eine Photobleichung mit $\Phi_{bl} \approx 10^{-4}$ bewirkte.

Die mit der Optoakustik-Spektroskopie (Kap. III.3.2) bestimmte kurzfristige "Energiespeicherung" wurde durch eine thermisch reversible Photoisomerisierung ($\tau \approx 170$ ns) der gestreckten Form, vermutlich um C(10), erklärt, die den Hauptdesaktivierungsprozeß (> 50%) dieses Konformers darstellt.

Die Triplett-Quantenausbeute sowie die Triplett-Energie ($90-170 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) wurden mit Hilfe der Energie-Transfer-Methode⁹⁹ (Anthracen als Sensibilisator) abgeschätzt. Einen Beweis für die direkte Bildung des Triplett-Zustands erhielt man durch Messung der Lumineszenz des durch Triplett-Phycocyanobilin sensibilisierten molekularen Singulett-Sauerstoff. Die Messung von τ_Δ in neutraler und saurer Lösung in Abhängigkeit von der Phycocyanobilinkonzentration (als 1O_2 -Löcher) lieferte die Löschkonstanten des neutralen und protonierten Moleküls. Dieser Prozeß wird hauptsächlich einer chemischen Löschung zugeschrieben, da eine Photooxidation beobachtet wurde. Diese erfolgte bevorzugt von der helicalen Form (vermutlich zu Dimeren aggregiert, s.o.), was durch wellenlängenabhängige Messungen gezeigt werden konnte. Die Photoprodukte wurden identifiziert und deren

Quantenausbeuten ($\Phi_{pr} \approx 10^{-5}$ bzw. 10^{-6}) bestimmt. Es wurde festgestellt, daß die 4,5-Doppelbindung die gegenüber Singulett-Sauerstoff reaktive Stelle des Moleküls ist, wobei der Unterschied der Löschkonstanten in neutraler und saurer Lösung mit der Blockierung dieser Doppelbindung durch Protonierung erklärt wurde (Kap. III.2.1.3).

Die 3'-Derivate von Phycocyanobilindimethylester zeigten ein analoges Verhalten:

Als 3'-Derivat wurden 3,3'-Dihydro-3'-thioethoxy- und 3,3'-Dihydro-3'-methoxy-phycocyanobilindimethylester synthetisiert und jeweils eins der beiden erhaltenen Stereoisomeren untersucht. Dabei wurde zunächst eine leichte Instabilität der Thioetherbindung gegenüber der Etherbindung festgestellt (Kap. III.1).

Es wurde eine Heterogenität verschiedener Spezies in Lösung beobachtet, sowie eine photoinduzierte, thermisch reversible Isomerisierung, vermutlich wiederum der gestreckten Form. Auch die Fluoreszenz-Quantenausbeute (Kap. III.3.1.2.) lag in derselben Größenordnung. Für die beobachtete Photooxidation konnte mit Hilfe eines Deuteriumeffektes gezeigt werden, daß sie über Singulett-Sauerstoff verlief, was ebenfalls auf eine direkte Triplettbildung des 3'-Derivats von Phycocyanobilindimethylester schließen läßt (Kap. III.2.2).

Die Untersuchungen zeigten, daß die Sättigung der 3,3'-Position keine Auswirkung auf die Eigenschaften eines Ring A gesättigten Bilatriens hat. Ferner führten sie zu dem Resultat, daß der Sättigungsgrad von Ring A nur die chemische Reaktivität (vgl. Synthese von 3'-Derivaten, chemische Reaktivität von C-5) und nicht die photophysikalischen (z.B. Fluoreszenz oder Triplett-Bildung) und photochemischen (z.B. cis-trans-Isomerisierung um vermutlich C-10) Eigenschaften eines Bilatriens beeinflußt.

Der Hauptdesaktivierungsprozeß nach Lichtanregung ist sowohl bei der gestreckten Form der Bilatriene als auch beim Phytochrom²¹, in dem der Chromophor in einer gestreckten Konformation vorliegt, eine cis-trans-Isomerisierung. Dabei bleibt offen, ob die beim Phytochrom beobachtete Z→E-Isomerisierung an C(15)^{14,15} wirklich der erste Schritt der Photoreaktion ist, oder ob nicht auch dort zunächst eine Isomerisierung an C(10) stattfinden könnte, die nach einer Folge von sich abwechselnden Prozessen (Protonentransfer

durch Wechselwirkungen mit dem Protein und Rotationen, eine solche Folge ist für BVE an C(10) bekannt³⁶⁾ in einer C(15)-Isomerisierung resultiert.

Obwohl Biliverdin wie Phycocyanobilin eine gute Modells substanz für die photophysikalischen und photochemischen Eigenschaften des Phytochrom-Chromophors ist, bietet Phycocyanobilin zusätzlich den Zugang zu Chromopeptiden, deren Synthese in ähnlicher Weise wie die der hier beschriebenen 3'-Derivate möglich sein sollte.

V. Experimenteller Teil

Die NMR-Messungen wurden von Frau U. Harms und Herrn J. Bitter durchgeführt.

Die IR-Spektren in KBr wurden von Frau B. Slyckers, die FT-IR-Spektren von Frau Dittrich gemessen.

Die Fluoreszenz-Messungen wurden von Frau A. Keil durchgeführt.

Die Massenspektren mit der EI- bzw. DCI-Methode wurden von Herrn Schmöller, Herrn Maßau und Herrn Herbrand gemessen.

Die Massenspektren mit der FAB-Methode wurden von Herrn Dr. M. Linscheid am Institut für Spektrochemie und Angewandte Spektroskopie in Dortmund gemessen.

Die Massenspektren mit der REMPI-Methode wurden von Herrn Dr. J. Grotemeyer am Institut für Physikalische und Theoretische Chemie der TU München gemessen.

Die Optoakustik-Messungen wurden von Herrn Dr. K. Heihoff durchgeführt.

Die Blitzlicht-Photolyse-Messungen wurden von Herrn Dr. P. Aramendia durchgeführt.

Die Singulett-Sauerstoff-Lumineszenz wurde von Herrn S. Nonell gemessen.

Allen Damen und Herren möchte ich an dieser Stelle herzlich für ihre Bemühungen danken.

V.1. Geräte- und Arbeitsbedingungen

Für die analytischen Dünnschichtchromatogramme (DC) wurden mit Kieselgel 60 F₂₅₄ beschichtete Glasplatten (Länge: 20 cm, Schichtdicke: 0.25 mm) der Fa. Merck verwendet. Es wurden die folgenden Laufmittel und (falls erforderlich) Anfärbereagenzien benutzt:

Laufmittel:

A : Chloroform/Methanol/Essigsäure = 900:100:1

B : Toluol/Methanol/Aceton = 2:1:1

C : Chloroform/Essigsäurethylester = 5:1

D : Toluol/Ethanol/Essigester = 20:1:1

Anfärbereagenzien:

E : Jod

F : Kaliumpermanganatlösung

G : Dragendorff-Reagenz nach Munier (Nr. 120¹¹³)

H : Dragendorff-Reagenz nach Munier und Macheboeuf (Nr. 121¹¹³)

I : 25 g Molybdätophosphorsäure, 10 g Cer(IV)-sulfat/ 940 cm³ Wasser, 60 cm³ konz. Schwefelsäure

K : 1 g Vanillin/ 100 ml konz. Schwefelsäure

Für die präparative Dünnschichtchromatographie wurden PSC-Fertigplatten (20 x 20 cm, Kieselgel 60 F₂₅₄, Schichtdicke: 1 mm, Merck) mit Konzentrationszone (4 x 20 cm) verwendet oder bei automatischer Auftragung mit einem Desaga Autoliner nach Stahl auch Dickschichtplatten (Kieselgel 60 F₂₅₄, Schichtdicke: 2 mm, Merck) ohne Konzentrationszone.

Für die Säulenchromatographie wurden entweder Lobar-Fertigsäulen der Größen A(240-10), B(310-25) und C(440-37) mit Kieselgel 60 (Korngröße 40 - 63 µm) der Fa. Merck verwendet, oder diese Säulen wurden mit dem gleichen Kieselgel neu gefüllt. Es wurde eine Niederdruck-Pumpe (Duramat) verwendet, mit der Drücke bis zu 7 bar

möglich waren. Die jeweiligen Durchflußgeschwindigkeiten und Drücke wurden mit Hilfe einer Schlauchklemme eingestellt. Die Laufmittel wurden 3x entgast, jeweils mit Argon gespült und während der Chromatographie unter Argonatmosphäre gehalten.

Für die Reinigung der Substanzen über Kurzsäulen wurde Kieselgel HF_{254} oder H nach Stahl für die Dünnschichtchromatographie (Korngröße: 10 - 40 μm) der Fa. Merck verwendet.

Die Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) wurde mit dem Liquid Chromatograph (Series 3, Perkin-Elmer) durchgeführt und die Substanzen wurden mit dem LC-55-Spectrophotometer derselben Firma detektiert. Die Säulenfüllung war immer Kieselgel 60 der Korngröße 5 - 7 μm (Merck). Folgende Bedingungen wurden zur Messung benutzt mit den Säulengrößen 0.46 x 15 cm (I) und 0.46 x 20 cm (II):

Bed	Laufmittel	Säule	Durchfluß	Druck	λ_{det}
A	$\text{CHCl}_3/\text{n-Hept.}/\text{MeOH}$ 20 : 80 : 0.5	I	1 ml/min	60 bar	368 nm
B	$\text{CHCl}_3/\text{n-Hept.}/\text{MeOH}$ 15 : 85 : 0.5	I	1.5 ml/min	75 bar	368 nm
C	$\text{CHCl}_3/\text{n-Hept.}/\text{MeOH}$ 40 : 60 : 0.8	II	0.5 ml/min	38 bar	335 nm

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Reichert Mikroschmelzpunktapparat nach L. Kofler gemessen.

Die IR-Spektren (IR) wurden mit einem PE 257- oder einem PE 580-Spektrometer (Perkin-Elmer) gemessen. Die Intensitäten der Banden wurden mit vw = sehr schwach, w = schwach, m = mittel, s = stark und vs = sehr stark, die Form mit br = breit angegeben.

Die NMR-Spektren (^1H -NMR/ ^{13}C -NMR) wurden mit einem WH-90-, WH-270- oder einem AM-400- (400 MHz für ^1H und 100.6 MHz für ^{13}C) Bruker-Spektrometer gemessen. Das

jeweilige Gerät und Lösungsmittel wurde bei den Daten mit angegeben. Chloroform- d_1 und Dichlormethan- d_2 wurden vor Gebrauch über bas. Al_2O_3 chromatographiert. Die Aufspaltung der Signale wurde mit m = Multiplett, q = Quartett, t = Triplett, d = Dublett und s = Singulett bezeichnet, breite Signale wurden mit br gekennzeichnet.

Die UV-Spektren (UV) wurden mit einem PE 356 oder einem PE 320 UV-Spektrometer von Perkin-Elmer gemessen.

Zur Aufnahme der Massenspektren (MS) wurden die folgenden Methoden benutzt:

Die Massenspektren mit Elektronenstoß-Ionisation (EI) wurden mit dem Finnigan MAT 311A (bei Massen < 900) oder mit dem Finnigan MAT 8230 (bei Massen > 900) mit einer Ionisationsenergie von 70 eV gemessen.

Die Massenspektren mit chemischer Ionisation (DCI) wurden ebenfalls mit dem Finnigan MAT 8230 und mit NH_3 als Reaktantgas durchgeführt.

Für die Messung mit Hilfe der FAB-Methode (Kap. III.2.1.2) wurden die Substanzen in 2-Nitrophenyl-octylether ($KP_{11} = 197-198\text{ }^{\circ}C$) gelöst. Die Messungen wurden mit dem doppelfokussierenden Massenspektrometer VG 7070E, dem Datensystem VG 11/250 und mit Argon oder Xenon als Primärgas, das mit einer Spannung von 8 keV beschleunigt wurde, durchgeführt. Die Auflösung betrug dabei $M/\Delta M \approx 1500$.

Die REMPI-RETOF-Messungen (Kap. III.2.1.2) wurden mit dem in Lit. 85 ausführlich beschriebenen Massenspektrometer mit der Auflösung von $M/\Delta M \approx 6000$ durchgeführt. Die dabei verwendete Ionisierungswellenlänge lag bei 272 nm (Frequenzverdoppelung eines Farbstoff-Lasers mit $\lambda = 544\text{ nm}$).

Die meisten Substanzen wurden entweder mit der EI- oder DCI-Methode gemessen, da die beiden anderen Methoden erst gegen Ende der Arbeit zur Verfügung standen. Deshalb konnten von vielen Verbindungen keine auswertbaren Massenspektren erhalten werden, weil sie sich unter diesen Meßbedingungen zersetzten, mit Ausnahme der Bilirubinsäure und der Dimethylester der Substanzen. Die jeweils benutzte Methode wurde bei den Daten mit angegeben. Der Basispeak wurde mit b gekennzeichnet.

Die Fluoreszenz-Spektren wurden mit einem Computer gesteuerten Spex-Fluorolog Spektrofluorometer gemessen (näheres s. Lit. 27).

Die für optische Messungen benutzten (UV-, Fluoreszenz-, 1 cm-, 1 mm-, Dreiecks-) Küvetten aus Quarz waren von der Fa. Hellma.

Zur Bestimmung der D_{UV}/D_{VIS} -Verhältnisse wurden nur die Absorptionen der jeweiligen Maxima ins Verhältnis zueinander gesetzt.

Die verwendeten Lösungsmittel waren von Merck (z.A.-Qualität), wenn im Text nicht anders angegeben. Das für die Säulenchromatographie benutzte Toluol hatte technische Qualität, das über bas. Al_2O_3 chromatographiert wurde. Für die Belichtungen wurde, wenn nicht anders angegeben, Toluol z.A. benutzt, das über bas. Al_2O_3 chromatographiert worden war.

V.2. Beschreibung der Versuche

Zu Kapitel II.1

Die als Ausgangsmaterial verwendete Bilirubinsäure (Serva) war ein Isomerengemisch (III α , IX α , XIII α), das nach der Reinigung^{44a} aus ca. 98% des IX α -Isomeren (BRA (5), laut HPLC) bestand. Alle Versuche wurden mit einem Isomerengemisch dieser Zusammensetzung durchgeführt.

Darstellung von Biliverdinsäure (6)

In Anlehnung an Lit. 44b/114 wurde BVA durch Reaktion von 200 mg ($\hat{=}$ 0.34 mmol) BRA (5) mit 163 mg ($\hat{=}$ 0.79 mmol) 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzochinon (DDQ) in argon-gespültem Dimethylsulfoxid (DMSO) hergestellt. Die Isolierung und Grobreinigung erfolgte ebenfalls wie in der Lit. beschrieben, wobei jedoch die zur Isolierung der Substanz benötigten Zentrifugationen bei wäßrigen Lösungen durch Filtrationen über einen Membranfilter aus Zelluloseacetat (Typ SM 110, Sartorius, Porengröße 0.2 μ m) ersetzt wurden. Man erhielt 162 mg ($\hat{=}$ 81% d.Th.) Biliverdinsäure (BVA), die für die Synthesen rein genug war (DC/ Laufmittel A). Die spektroskopischen Daten (abgesehen von MS, da nur Zersetzungsprodukte beobachtbar, vgl. S. 116) stimmten mit denen der Literatur¹¹⁴ überein.

Darstellung von Biliverdinsäure-IX α , reinst

Eine Suspension von 29.7 mg BVE (Isomerenreinheit > 99%) in 5 ml MeOH und 3 ml 0.1 N wäßrige NaOH-Lösung wurde 2 Tage unter Argon gerührt. Dann wurde die Reaktionsmischung in 20 ml 0.1 N wäßrige NaOH gegossen und 3x mit je 20 ml CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden noch 1x mit 20 ml 0.1 N wäßriger NaOH extrahiert und eingedampft. Man erhielt dabei 4.2 mg BVE aus der organischen Phase zurück. Die vereinigten wäßrigen Phasen wurden solange mit Essigsäure versetzt, bis BVA ausfiel. Nach 18stündigem Stehenlassen wurde der Niederschlag über einen Zelluloseacetatfilter (Typ SM 110, Sartorius, Porengröße 0.2 μ m) abgesaugt und mit Wasser

gewaschen. Die Trocknung bei RT im Vakuum lieferte 9.9 mg BVA, das laut HPLC (RP-18, LichroSorb/ 15 cm x 0.4 cm/ Laufmittel: 2 mmol H_3PO_4 + 0.05 mmol NaH_2PO_4 in 1 l Ac/ H_2O = 3:1/ Durchfluß: 1 ml/min, $\lambda^{\text{det}} = 380$ nm) eine Reinheit von 99% aufwies.

Darstellung von Biliverdinsäuredimethylester (2)

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an Lit. 26 durch Umsatz von 50.9 mg ($\hat{=}$ 0.087 mmol) grobgereinigtem BVA (s.o.) mit MeOH + 5% H_2SO_4 . Man erhielt 41.3 mg ($\hat{=}$ 77% d.Th.) Biliverdindimethylester (BVE), der für weitere Reaktionen rein genug war (DC/ Laufmittel A und B). Die spektroskopischen Daten stimmten mit denen der Literatur²⁶ überein.

IR-Spektrum (CHCl_3):

$\tilde{\nu} = 3420$ w/ 2930 m/ 1730 s/ 1695 m/ 1360 m/ 1160 m cm^{-1}

UV-Spektrum (CHCl_3):

$\lambda_{\text{max}} = 378 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}} = 654 \text{ nm}$
 $E(378):E(654) = 3.13$

Versuch zur Darstellung von Zn-Biliverdinsäure (11)

Eine Suspension von 18.5 mg BVA (6) in 40 ml EtOH wurde 12 Stunden lang bei RT gerührt und der unlösliche Rückstand (9.5 mg) abfiltriert. Die in Anlehnung an Lit. 32 durchgeführte Reaktion mit $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ z.A. führte nach Trocknung zu einem grünen, amorphen Produkt (37.5 mg).

Zersetzung: ab 210°C

IR-Spektrum (KBr):

$\tilde{\nu} = 3440$ m (breit)/ 1575 s/ 1400 m (breit)/ 1220 vw/ 1120 w cm^{-1}

Versuche zur Darstellung von Biliverdinsäureanhydrid (3)

1. Umsatz mit DCC

Eine Suspension von 100 mg ($\hat{=}$ 0.17 mmol) BVA (6) und 141.7 mg ($\hat{=}$ 0.77 mmol) N,N-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) in 20 ml Aceton wurde unter Argon bei RT 6 Tage gerührt. Die Reaktion wurde mit DC (Laufmittel A und C) verfolgt. Zunächst bildete sich das Hauptprodukt 7 und das Nebenprodukt 16. Im Verlauf der Reaktion konnte man die Bildung eines neuen Produktes, 8, erkennen, das um so schneller gebildet wurde, je mehr DCC zugegeben wurde (vgl. S. 124). Der nach Verdampfen des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wurde mit präparativer DC (Laufmittel A) aufgetrennt. Die neben 10 mg Ausgangsmaterial erhaltene Fraktion 1 (16 und 7) wurde mit präparativer DC (Laufmittel B) in 16 (10 mg $\hat{=}$ 9.8% d. Th.) und 7 (21 mg $\hat{=}$ 16% d. Th.) aufgetrennt; die Fraktion 2 mit präparativer DC (Laufmittel C) gereinigt ($\rightarrow$ 8/ 28.7 mg $\hat{=}$ 17.6% d. Th.).

Bei der Reinheitsuntersuchung der Produkte (laut DC einheitlich) erwies sich das Anfärbereagenz K am empfindlichsten zum Nachweis von noch vorhandenem DCC bzw. DCH. Die Bildung des Nebenproduktes 16, das als Isomerengemisch a und b von Biliverdinsäuremonomethylester (BVME) identifiziert wurde, war auf eine Reaktion mit dem Laufmittel A (enthält 10% MeOH) bei der analytischen und präparativen Dünnschichtchromatographie zurückzuführen. Produkt 7 stellt ein Isomerengemisch a und b im Verhältnis 1:1 dar.

RF-Werte der Produkte:

Laufmittel	A	B	C
Produkte			
<u>16</u>	0.40	0.47	0.00
<u>7</u>	0.43	0.56	0.00
<u>8</u>	0.73	0.71	0.02
DCH	0.54	0.64	0.18
BVA	0.11-0.19	-	0.00
BVME(<u>16</u>)	0.39	0.45	0.00
BVE	0.73	0.68	0.07-0.11

Schmelz- bzw. Zersetzungspunkte:

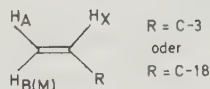
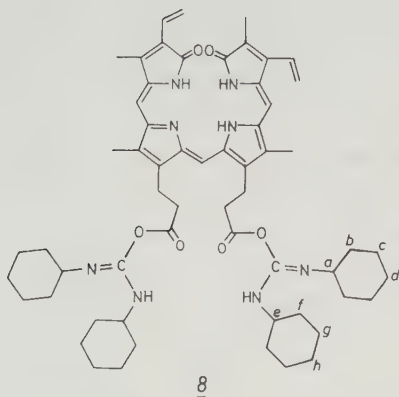
7: - , ab ca. 210 °C Zersetzung

8: - , ab ca. 160 °C langsame Zersetzung

^1H -NMR-Spektren (CDCl_3 /270 MHz):

Substanz 7:

$\delta = \{ 1.13/ 1.27/ 1.57/ 1.64/ 1.76 \}$ m (8 H-c, 4 H-d, 8 H-g, 4 H-h, 8 H-b, 8 H-f)/
 1.90 s (2 CH_3 -2)/ $\{ 2.02/ 2.03/ 2.03/ 2.06 \}$ s (2 CH_3 -7, 2 CH_3 -17)/ $\{ 2.14/ 2.16 \}$ (2 CH_3 -13)/ 2.42 m (2 $\alpha\text{-CH}_2\text{COOH}$)/ 2.53 m (2 $\alpha\text{-CH}_2\text{COOR}$)/ 2.86 m (4 $\beta\text{-CH}_2$)/ $\{ 3.58/ 4.01 \}$ m (2 H-a, 2 H-e)/ $\{ 5.42/ 5.44 \}$ (2 H-18A)/ 5.58 s (2 H-3A)/ $\{ 5.64/ 5.66 \}$ (2 H-3B)/ 5.80 s (2 CH-5)/ 5.97 s (2 CH-15)/ $\{ 6.12/ 6.18 \}$ (2 H-18M)/ $\{ 6.42/ 6.52/ 6.58/ 6.64 \}$ m (2 H-18X, 2H-3X)/ 6.86 s (2 CH-10) ppm



Substanz 8:

$\delta = \{ 1.22/ 1.36/ 1.67/ 1.85 \}$ m (8 H-c, 4 H-d, 8 H-g, 4 H-h, 8 H-b, 8 H-f)/ 1.94 s (CH_3 -2)/ 2.15 s (CH_3 -7)/ 2.17 s (CH_3 -17)/ 2.24 s (CH_3 -13)/ 2.65 t (2 $\alpha\text{-CH}_2$)/ 3.63 t (2 $\beta\text{-CH}_2$)/ $\{ 3.69/ 4.03 \}$ m (2 H-a, 2 H-e)/ $\{ 5.44/ 5.46 \}$ (H-18A)/ 5.64 s (H-3A)/ $\{ 5.69/ 5.71 \}$ (H-3B)/ 6.02 s (CH-5)/ 6.08 s (CH-15)/ $\{ 6.12/ 6.18 \}$ (H-18M)/ $\{ 6.46/ 6.49/ 6.52/ 6.56/ 6.58/ 6.62/ 6.64/ 6.68 \}$ m (H-18X, H-3X)/ 6.83 s (CH-10) ppm

IR-Spektren (CH_2Cl_2):

Substanz 7:

$\tilde{\nu}$ = 3670, 3600 vw/ 3420-3280 w/ 2930, 2850 m/ 1700 vs/ 1590 m/ 1500 w/ 1385,
1215, 1160, 1090 w cm^{-1}

Substanz 8:

$\tilde{\nu}$ = 3420 vw/ 3260 w/ 2925, 2855 m/ 1695 vs/ 1680 s/ 1650 s/ 1485 m/ 1360,
1210, 960 w cm^{-1}

Massenspektren (vgl. S. 116):

7: $M = 125$ Cyclohexylisocyanat

8: $M = 125$ Cyclohexylisocyanat

UV-Spektren (CHCl_3):

7: $\lambda_{\text{max}} = 379 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}} = 645 \text{ nm}$ (breit)
 $E(379):E(645) = 3.28$

8: $\lambda_{\text{max}} = 381 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}} = 655 \text{ nm}$ (breit)
 $E(381):E(655) = 3.71$

Die weiteren Reaktionen von BVA mit DCC wurden analog durchgeführt, jedoch mit der entsprechenden Abwandlung (höhere Temperatur, Variation der Menge DCC von 1 - 4 Äquivalenten, Variation des Lösungsmittels, Zugabe von Nafion-H). Sie führten alle zu den gleichen Produkten (vgl. Tabelle S. 124).

2. Umsatz mit Acetylchlorid

Die Lösung von 21.8 mg ($\hat{=}$ 0.037 mmol) BVA in 3 ml Acetylchlorid wurde 8 Tage bei RT unter Argon gerührt. Obwohl laut DC immer noch Edukt vorhanden war, wurde die Mischung eingedampft. Der Rückstand wurde in 1 ml MeOH/Ac = 1:1 gelöst und über

eine Säule (Laufmittel: To/MeOH/Ac = 8:1:1; Druck: 1 atm) getrennt. Man isolierte 3 Produkte: 5.3 mg ($\hat{=}$ 21% d. Th.) des gemischten Dianhydrids 10 (RF = 0.68), 1.6 mg ($\hat{=}$ 7% d. Th.) der Isomeren a und b des Monoanhydrids 9 (RF = 0.52) und 2.6 mg ($\hat{=}$ 12% d. Th.) der Isomeren a und b von BVME 16 (RF = 0.48). Die RF-Werte beziehen sich auf das Laufmittel B. Produkt 16 ist auch hier offensichtlich bei der Reinigung entstanden.

$^1\text{H-NMR-Spektren (CDCl}_3/\text{ 270 MHz):}$

Substanz 10:

δ = 1.85 s ($\text{CH}_3\text{-2}$)/ 2.06 s ($\text{CH}_3\text{-7}$)/ 2.09 s ($\text{CH}_3\text{-17}$)/ 2.16 s ($\text{CH}_3\text{-13}$)/ {2.50/ 2.53} tt (2 $\alpha\text{-CH}_2$)/ 2.91 t (2 $\beta\text{-CH}_2$)/ 3.64 s (2 OCOCH_3)/ {5.38/ 5.41} (H-18A)/ 5.60 (H-3A)/ {5.63/ 5.66} (H-3B)/ 5.97 s (CH-15)/ 6.02 s (CH-5)/ {6.04/ 6.11} (H-18M)/ {6.37/ 6.39/ 6.43/ 6.45/ 6.49/ 6.51/ 6.55/ 6.58/ 6.61} m (H-18X, H-3X)/ 6.75 s (CH-10) ppm

Substanz 9 (a+b):

δ = 1.87 s (2 $\text{CH}_3\text{-2}$)/ {2.03/ 2.04/ 2.07/ 2.10/ 2.18/ 2.19} (2 $\text{CH}_3\text{-7}$, 2 $\text{CH}_3\text{-17}$, 2 $\text{CH}_3\text{-13}$)/ 2.31 t (2 $\alpha\text{-CH}_2\text{COOH}$)/ 2.49 t (2 $\alpha\text{-CH}_2\text{COOR}$)/ 2.84 m (4 $\beta\text{-CH}_2$)/ 3.46 s (2 -OCOCH_3)/ {5.38/ 5.44} (2 H-18A)/ 5.59 (2 H-3A)/ {5.64/ 5.67} (2 H-3B)/ 5.99 s (2 CH-15)/ 6.04 s (2 CH-5)/ {6.07/ 6.13} (2 H-18M)/ {6.37/ 6.41/ 6.46/ 6.47/ 6.52/ 6.53/ 6.57/ 6.59/ 6.64} m (2 H-18X, 2 H-3X)/ 6.79 s (2 CH-10) ppm

IR-Spektren (CHCl_3):

Substanz 10:

$\tilde{\nu}$ = 3670 w/ 3520 vw/ 3420 vw/ 2920 m/ 2850 m/ 1728 s/ 1695 s/ 1600 m / 1455 - 1420 w/ 1250 - 1160 m cm^{-1}

Substanz 9 (a+b):

$\tilde{\nu}$ = 3670 w/ 3420 w/ 2920 w/ 2850 vw/ 1695 s/ 1600 m cm^{-1}

3. Umsatz mit Essigsäureanhydrid

Die Lösung von 21.0 mg ($\hat{=}$ 0.036 mmol) BVA in 3 ml Essigsäureanhydrid wurde acht Tage bei RT unter Argon gerührt. Zur Beendigung der noch immer unvollständigen Reaktion wurde die Mischung in Eiswasser gegossen und dieses 3x mit insgesamt 50 ml CHCl_3 extrahiert. Die organische Phase wurde 4x mit je 20 ml ges. NaHCO_3 -Lösung und 1x mit 20 ml H_2O gewaschen. Nach Trocknung mit Na_2SO_4 wurde die Lösung eingedampft. Der Rückstand wurde in 1 ml Laufmittel gelöst und über eine Säule (Laufmittel: $\text{To/MeOH/Ac} = 8:1:1$; Druck: 1 atm) getrennt. Es wurden drei Produkte isoliert. RF-Werte: 0.68 (6.7 mg $\hat{=}$ 28% d. Th.)/ 0.52 (3.6 mg $\hat{=}$ 16% d. Th.)/ 0.48 (3.6 mg $\hat{=}$ 17% d. Th.). Diese entsprachen den Produkten 9a, 9b und 10 des Ansatzes mit Acetylchlorid.

Die Reaktionen mit Zusatz von $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ wurden analog durchgeführt.

Reagenz	Lsgsm.	Temp.	Zeit	Produkte
1-4 eq DCC	Aceton	RT	6-2 d	<u>7</u> , <u>8</u>
1 eq DCC	Aceton	80 °C	32 h	<u>7</u> , <u>8</u>
1 eq DCC	Aceton/ Acetonitril	RT	6 d	<u>7</u> , <u>8</u>
1 eq DCC	Dioxan	RT	2 d	<u>7</u> , <u>8</u>
Ac_2O	Ac_2O	RT	30 h	<u>9</u> , <u>10</u>
Ac_2O	Ac_2O	90 °C	2.5 h	<u>9</u> , <u>10</u>
AcOCl	AcOCl	RT	4 d	<u>9</u> , <u>10</u>
AcOCl	AcOCl	90 °C	2.5 h	<u>9</u> , <u>10</u>
p-TsCl	Pyridin	RT	40 h	keine Reaktion
$\text{Zn}(\text{OAc})_2$	Ac_2O	RT	5 h	<u>9</u> , <u>10</u>
$\text{Zn}(\text{OAc})_2$ DCC	Aceton	RT	1 d	keine Reaktion

4. Reaktionen ausgehend vom Zwischenprodukt 7

4 mg der Substanz 7 wurden in 5 ml Aceton gelöst und mit Nafion-H versetzt. Da nach 1 Tag noch keine Reaktion festzustellen war, wurde die Lösung auf 80°C erhitzt. Schon nach 10 min war die Lösung völlig farblos und Nafion-H schwarzgrün. Die sofort abgekühlte Lösung wurde zur Freisetzung der Substanz mit N,N-bis-Trimethylsilyl-trifluoracetamid versetzt (Annahme: polymer gebundene Silylierung des Nafion-H). Da dieses nicht erfolgreich war, wurden 3 Tropfen konz. HCl zugegeben und die Lösung färbte sich grün. Das Nafion-H wurde noch mehrmals mit konz. HCl in Aceton extrahiert. Die Fraktionen wurden mit CHCl_3 versetzt und 3x mit Wasser gewaschen. Das nach Trocknung mit Na_2SO_4 und Eindampfen erhaltene Gemisch bestand nur aus Zersetzungsprodukten.

Die in analoger Weise bei RT durchgeführte, mehrtägige Reaktion mit Dowex (Ionenaustauscher in der H^+ -Form) resultierte ebenfalls in der Adsorption der Substanz und führte bei Behandlung mit konz. Salzsäure zu dem gleichen Produktgemisch.

Reagenz	Lsgsm.	Temp.	Zeit	λ^{exc}	Ergebnis
Nafion-H	Aceton	RT	24 h	-	keine Reaktion
Nafion-H	Aceton	80 °C	10 min	-	Adsorption an Nafion
Dowex	Aceton	RT	24 h	-	Adsorption an Dowex
—	CHCl_3	RT	2 d	589	keine Reaktion
Nafion-H	CHCl_3	RT	1 d	589	"
p-TsOH	CHCl_3	RT	1 d	589	"

Die Belichtung einer mit Argon gespülten Lösung von 3 mg Substanz 7 in 3 ml CHCl_3 mit Gelblicht (Natriumdampflampe, 90 W, $\lambda = 589 \text{ nm}$) führte bei viertägiger Reaktion nur zu Zersetzungsprodukten. Bei der analog durchgeführten Belichtung in Anwesenheit von Nafion-H war nach 2 Tagen kein Produkt entstanden. Auch die Zugabe von p-TsOH ergab nach 24 Stunden keine Änderung.

Eine ca. 10^{-5} M Lösung von 7 in CHCl_3 wurde unter Argon bei RT gerührt. Da nach 5 Tagen noch keine Reaktion zu beobachten war (DC) wurde etwas Nafion-H zugegeben

und weitere 2 Tage gerührt. Da auch dieses erfolglos war, wurde der Katalysator abfiltriert und die Lösung eingedampft.

Darstellung des Zinkacetatkomplexes von Biliverdindimethylester (15)

45.5 mg ($\hat{=}$ 0.075 mmol) BVE (2), wurde wie in Lit. 32 beschrieben, mit $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ in abs. Ethanol umgesetzt. Man erhielt den Zinkkomplex in 71%iger Ausbeute ($\hat{=}$ 42.3 mg).

Zersetzung oberhalb 250 °C

IR-Spektrum (KBr):

$\tilde{\nu} = 3430 \text{ w/ } 2920 \text{ w/ } 2855 \text{ vw/ } 1735 \text{ s/ } 1700 - 1680 \text{ s/ } 1575 \text{ s } 1433 \text{ m/ } 1390 \text{ m/ } 1370, 1360 \text{ m/ } 1270 \text{ m/ } 1215 \text{ m/ } 1167 \text{ m/ } 1112 \text{ s/ } 965 \text{ m } \text{cm}^{-1}$

Zu Kapitel II.2

Versuche zur Darstellung einer anderen cyclischen Verbindung

1. Acyloinkondensation, Darstellung des α -Hydroxyketons 13

In Anlehnung an eine Vorschrift von Rühlmann¹¹⁵ wurde zu der Suspension eines kleinen Stückchens Natrium und 25 μl ($\hat{=}$ 0.17 mmol) Trimethylchlorsilan in 2.5 ml abs. THF eine Lösung von 51.5 mg ($\hat{=}$ 0.084 mmol) BVE (2) in 3 ml abs. THF gegeben. Die Mischung wurde 4 Stunden bei RT unter Argon gerührt, wobei eine Farbänderung von blaugrün nach gelbgrün zu beobachten war. Zur Vernichtung des überschüssigen Natriums wurden ein paar Tropfen MeOH zugegeben und die Mischung eingedampft. Der Rückstand wurde mit CH_2Cl_2 aufgenommen, mit Eiswasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Man erhielt 42.5 mg eines grünen Feststoffes, der bei der Säulenchromatographie (Laufmittel: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Ac} = 20:1$ mit stufenweise ansteigender Polarität) 23.8 mg eines Produktes lieferte, das als Edukt identifiziert wurde.

Die Reaktion mit Zn-BVE (15) wurde analog in Toluol durchgeführt. Da bei RT nach 7 Stunden noch keine Reaktion zu beobachten war, wurde die Mischung für 2 Stunden auf 90 °C erhitzt, was aber nur zu Zersetzungsprodukten führte.

2. Dieckmann-Kondensation, Darstellung des β -Ketoesters 14

Zu der Lösung aus etwas Natrium in 5 ml abs. Methanol wurden 6.4 mg ($\hat{=}$ 0.011 mmol) BVE (2) in 4 ml abs. MeOH gegeben. Man ließ 2 Tage bei RT unter Argon rühren und setzte im Laufe der Reaktion noch zweimal etwas Natrium zu. Nach Neutralisation mit Essigsäure wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand mit 10 ml CHCl_3 aufgenommen und 3x mit je 5 ml Eiswasser gewaschen. Trocknung mit Na_2SO_4 und Eindampfen lieferten 7.9 mg eines grünen Produktgemisches. Dieses wurde über eine analytische DC-Platte (Laufmittel: To/MeOH/Ac = 2:1:1) getrennt und man erhielt neben 3.8 mg ($\hat{=}$ 60% d. Th.) zurückgewonnenem Edukt 1.3 mg ($\hat{=}$ 20% d. Th.) eines neuen Produktes, das als BVME (16; Isomerengemisch a und b im Verhältnis 1:1) identifiziert wurde.

Die Reaktion wurde auch mit Zn-BVE (15) entsprechend ausgeführt. Da bei RT nach 24 Stunden noch kein Umsatz sichtbar war, wurde für 6 Stunden auf 90 °C erhitzt. Man isolierte das gleiche Produktgemisch wie beim Einsatz von BVE.

Darstellung der Biliverdinsäuremonomethylester 16a+b

Die Lösung von 19.3 mg ($\hat{=}$ 0.033 mmol) BVA (6) in 5 ml MeOH + 0.15 ml konz. H_2SO_4 wurde 2 Stunden bei 0 °C gerührt und dann in 40 ml Eiswasser gegossen. Dieses wurde mit NaCl gesättigt und 3x mit je 25 ml CHCl_3 extrahiert. Die vereinigten, organischen Phasen wurden 1x mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt wurde auf Kieselgel aufgezogen und über eine Säule (Laufmittel: To/MeOH/Ac = 8:1:1; Druck: 1 atm) getrennt. Neben 8.2 mg ($\hat{=}$ 40.5% d. Th.) BVE wurden 1.7 mg ($\hat{=}$ 8.6% d. Th.) BVME als Gemisch der beiden Isomeren a und b isoliert.

Smp.: 127-130 °C

¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃/ 270 MHz):

δ = 1.87 s, br (2 CH₃-2)/ {2.03/ 2.04/ 2.07/ 2.10/ 2.17/ 2.19} je 2 (CH₃-7, CH₃-17, CH₃-13)/ 2.29 br (2 α -CH₂COOH)/ 2.50 t (2 α -CH₂COOR)/ 2.76-2.84 m (4 β -CH₂)/ 3.62 s (2 OCH₃)/ {5.41/ 5.44} (2 H-18A)/ 5.61 (2 H-3A)/ {5.66/ 5.69} (2 H-3B)/ 5.99 s (2 CH-15)/ 6.07 s (2 CH-5)/ {6.10/ 6.13} (2 H-18M)/ {6.39/ 6.43/ 6.47/ 6.49/ 6.53/ 6.55/ 6.60/ 6.62/ 6.65} (2 H-18X, 2 H-3X)/ 6.79 s (2CH-10) ppm

IR-Spektrum (CHCl₃):

$\tilde{\nu}$ = 3670 w/ 3420 w/ 2920 m/ 2845 m/ 1725 (Schulter)/ 1690 s/ 1600 m cm⁻¹

MS-Spektrum (EI, Verdampfungstemperatur: 150 °C):

m/e (%) : 596 (2) M⁺/ 328 (3)/ 300 (4)/ 268 (5)/ 44 (b) CO₂⁺

UV-VIS-Spektrum (CHCl₃):

$\lambda_{\max} = 379 \text{ nm}$, $\lambda_{\max} = 645 \text{ nm}$ (breit)
E(379) : E(645) = 3.28

Zu Kapitel II.3

FT-IR- und Fluoreszenz-Messungen von Biliverdinsäure-IX α

Für die FT-IR-Spektren von BVA (reinst) wurde CHCl₃ z.A. über bas. Al₂O₃ chromatographiert. Dieses wurde 30 min im Ultraschallbad entgast und dann 30 min mit Argon gespült. BVA wurde darin suspendiert und über Nacht gerührt. Dann wurde über einen Membran-Filter aus PTFE (Typ SM 118, Sartorius/ Porengröße 0.2 μ m) filtriert und die Konzentration durch Absorptions-Messung bestimmt. Die verschiedenen Konzentrationen wurden durch entsprechende Verdünnung dieser Stammlösung hergestellt.

Für die Fluoreszenz-Spektren wurden die Lösungen analog vorbereitet. Bei Absorptionen ≥ 0.1 wurden die Lösungen in 1 mm-Küvetten, die im 45°-Winkel in die Probenhalterung gesetzt waren, oder in Dreiecksküvetten gemessen, sonst in 1 cm-Fluoreszenz-Küvetten.

Zu Kapitel III.1

Versuch zur Darstellung von 2,3"-Dihydrobiliverdindimethylester (17)

Eine unter Argonatmosphäre auf $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlte Suspension von 37.5 mg ($\hat{=}$ 0.26 mmol) Cu(I)Br in 2 ml abs. Pyridin wurde in Anlehnung an die Literatur^{50b} mit 0.3 ml einer 20%igen DIBAH-Lösung ($\hat{=}$ 0.30 mmol) in n-Hexan versetzt. Die dunkelbraune Lösung wurde noch 15 min gerührt, dann wurde die überstehende, gelbe Lösung abpipettiert und der dunkelbraune Feststoff noch fünfmal mit je 1 ml kaltem, trockenem Ether gewaschen. Es wurden 0.5 ml abs. THF und 0.2 ml einer 8.9%igen n-BuLi-Lösung ($\hat{=}$ 0.26 mmol) in n-Hexan zugegeben und 15 min bei $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Nach Zugabe von 41.7 mg ($\hat{=}$ 0.07 mmol) BVE in 2 ml THF ließ man 1/2 Stunde bei $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ reagieren, dann noch 1 Stunde bei RT. Die unter Eiskühlung mit 5 ml ges. NH_4Cl -Lösung versetzte Reaktionsmischung wurde in eine Mischung aus 10 ml NH_4Cl -Lösung und 30 ml CHCl_3 gegossen und kräftig geschüttelt. Nach Abtrennung der CHCl_3 -Phase wurde die wäßrige Phase noch 1x mit 20 ml und 2x mit je 10 ml CHCl_3 extrahiert. Die organischen Phasen wurden 3x mit je 30 ml NH_4Cl -Lösung gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Man erhielt 78.4 mg ($\gg$ 100%) eines olivgrünen Feststoffes, der nur aus Zersetzungsprodukten bestand.

Isolierung von Phycocyanobilinsäure (18) aus der Blaualge *Spirulina* Geitleri bzw. *Spirulina Platensis*

200 g getrocknete, pulverisierte Algen wurden in 2 Portionen mit je 1 l techn. MeOH ca. 1 Stunde lang bei RT gerührt und abfiltriert. Dieses wurde so oft mit jeweils 500 ml MeOH wiederholt, bis die Filtrate nahezu farblos waren (insgesamt ca. 10 l). Die so gewaschenen Algen wurden im Soxhlett mit 1.25 l MeOH (Badtemperatur: $110\text{ }^{\circ}\text{C}$) unter Argon extrahiert, bis das Extrakt nahezu farblos war. Nach ca. 12-15 Stunden wurde jeweils die Vorlage gewechselt (insgesamt ca. 2.5 Tage) und das Lösungsmittel im Vakuum verdampft. Der Rückstand wurde in 500 ml CHCl_3 + 40 ml MeOH gelöst und mit Eiswasser geschüttelt. Nach Ablassen der organischen Phase wurde 2x mit je 200 ml und 1x mit 100 ml Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 2x mit je 200 ml Eiswasser gewaschen und eingedampft. Das Rohprodukt (1.4 g) wurde ohne wei-

tere Reinigung zur Veresterung eingesetzt.

Darstellung von Phycocyanobilindimethylester (4)

1.4 g ungereinigte PCBA (18) wurden in 25 ml MeOH zum Sieden erhitzt. Dazu wurden 25 ml Bortrifluorid-Lösung (14%ig in MeOH) gegeben und die Lösung 3 min gekocht. Danach wurde sie in 200 ml Eiswasser gegossen und 4x mit insgesamt 500 ml CHCl_3 extrahiert. Die organische Phase wurde noch 2x mit je 100 ml Wasser gewaschen und eingedampft. Das Rohprodukt (1.4 g) wurde über eine Kurzsäule ($d = 5.2 \text{ cm}$ / $h = 9 \text{ cm}$ / 300 ml Kieselgel H nach Stahl/ Laufmittel: $\text{To/EtOH/EE} = 300:1:1$ mit auf $50:1:1$ ansteigender Polarität/ leichtes Wasserstrahlvakuum) grob gereinigt. Die dabei erhaltenen 276 mg wurden über 3 hintereinander geschaltete, selbst gefüllte Fertigsäulen der Größe C mit dem Laufmittel $\text{To/EtOH/EE} = 100:1:1$, der Durchflußgeschwindigkeit von 5-6 ml/min bei einem Druck von 5 bar getrennt. Man isolierte 53.4 mg PCBE mit 97%iger Reinheit (HPLC-Bedingung A; DC-Bedingung D: einheitliches Produkt, $\text{RF} = 0.21$). Die Ausbeuten schwankten bei den verschiedenen Isolierungen um $\pm 20\%$ je nach Qualität der Algen. Die UV-, IR-, MS- und $^1\text{H-NMR}$ -Spektren stimmten mit denen der Literatur^{52,53,56} überein.

Bei der Darstellung von PCBE mit $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{MeOH}$ wurden 0.6 g ungereinigtes PCBA (18) in 50 ml MeOH gelöst und nach Abkühlen auf 0°C mit 1.5 ml konz. H_2SO_4 versetzt. Nach vierzehnstündigem Rühren bei 0°C wurde der Ansatz wie beschrieben (s.o.) aufgearbeitet und das Produkt gereinigt. Man isolierte 19.4 mg PCBE (4), das nach DC (s.o.) einheitlich war.

Darstellung der 3,3'-Dihydro-3'-methoxy-phycocyanobilindimethylester 19a+b

Zur Herstellung der Methanoladdukte wurden ca. 2g ungereinigtes PCBA wie bereits beschrieben mit $\text{BF}_3 \cdot \text{MeOH}$ umgesetzt; die Reaktionsdauer betrug jedoch jetzt 5-6 statt 3 min. Durch Säulenchromatographie (Bedingungen s.o.) konnte das Gemisch von 19a und 19b, etwas PCBE und Substanz 20 (2,3-Didehydro-3,3'-dihydro-3'-methoxy-phycocyano-

bilindimethylester) von der Hauptmenge PCBE abgetrennt werden. Dieses Gemisch (110 mg) wurde nun zunächst über 3 hintereinander geschaltete Fertigsäulen der Größen A,B und C mit dem Laufmittel PE/Ac = 10:1 mit langsam ansteigender Polarität auf 6:1 (Durchfluß: 5 ml/min, Druck: 5 bar) getrennt. Dieses führte zu 6.5 mg PCBE, 6.5 mg der Substanz 20 und den noch nicht ganz einheitlichen Methanoladdukten: Addukt 19a (12.2 mg) mit PCBE und einer Spur 19b, sowie Addukt 19b (20.2 mg) mit Substanz 20 und einer Spur 19a. 4.9 mg Methanoladdukt 19a konnte man mit fast 97%iger Reinheit (HPLC-Bedingung B) durch anschließende Säulenchromatographie über 2 Fertigsäulen der Größen A und B mit dem Laufmittel $\text{CHCl}_3/\text{n-Hept.}/\text{MeOH} = 50:50:0.5$ (Durchfluß ca. 5 ml/min, Druck ca. 5 bar) isolieren. Beim Reinigungsversuch von Addukt 19b erhielt man dieses jedoch nur mit 3 mg Ausbeute und einer Reinheit von 90%.

Die spektroskopischen Daten von 19a und 19b entsprachen denen aus Lit. 58.

Substanz 20:

Smp.: 180-182 °C

MS-Spektrum (Verdampfungstemperatur: 220 °C):

m/e (%) : 644 (b) M^+ / 612 (10) $\text{M}-\text{CH}_3\text{OH}$ / 597 (20) 612- CH_3 / 302 (55)

IR-Spektrum (CHCl_3):

$\tilde{\nu} = 2920 \text{ m} / 2855 \text{ w} / 1740 \text{ m} / 1695 \text{ s} / 1600 \text{ m} \quad \text{cm}^{-1}$

$^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (CDCl_3 / 270 MHz):

$\delta = 1.04 \text{ t } (\text{CH}_3-18') / 1.53 \text{ d } (\text{CH}_3-3') / 1.85 \text{ s } (\text{CH}_3-2) / \{2.05 \text{ s} / 2.06 \text{ s} / 2.07\text{s}\} (\text{CH}_3-7, \text{CH}_3-13, \text{CH}_3-17) / 2.25 \text{ q } (\text{CH}_2-18) / 2.53 \text{ t } (2 \alpha\text{-CH}_2) / 2.91 \text{ t } (2 \beta\text{-CH}_2) / 3.35 \text{ s } (\text{CH}_3\text{O}-3') / 3.66 \text{ s } (2 \text{COOCH}_3) / 4.49 \text{ q } (\text{H}-3') / 5.88 \text{ s } (\text{H}-15) / 6.34 \text{ s } (\text{H}-5) / 6.74 \text{ s } (\text{H}-10) \quad \text{ppm}$

UV/VIS-Spektrum (CHCl_3):

$\lambda_{\text{max}} = 372 \text{ nm} \quad , \quad \lambda_{\text{max}} = 635 \text{ nm}$

$\text{E}(372) : \text{E}(635) = 3.65$

Versuch zur Darstellung der 3,3'-Dihydro-3'-carbomethoxy-(L)-cysteinyl-phycocyanobilindimethylester 21a+b

Die Lösung von 37.8 mg ($\hat{=}$ 0.06 mmol) PCBE in 5 ml CHCl_3 wurde mit 80.8 mg ($\hat{=}$ 0.47 mmol) L-Cysteinmethylester-Hydrochlorid in 5 ml CHCl_3 versetzt. Nach Zugabe von p-TsOH in katalytischer Menge ließ man 29 Stunden bei RT reagieren. Dann wurde die Mischung in 40 ml Wasser gegossen und dieses noch 3x mit je 20 ml CHCl_3 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden noch 2x mit je 20 ml H_2O gewaschen und eingedampft. Die Reinigung des Produktes erfolgte über 3 hintereinander geschaltete Fertigsäulen der Größen A, B und C mit dem Laufmittel To/EtOH/EE = 20:1:1 (Durchfluß: 5 ml/min, Druck: 5 bar). Man isolierte neben 3 mg Edukt ($\hat{=}$ 8% d. Th.) noch zwei Substanzen (7.8 mg mit RF = 0.05, Bed. D und 6.0 mg mit RF = 0.04, Bed. D), die vermutlich die beiden 3'-Diastereomeren 21a und 21b des gewünschten Produktes sind. Da sie sich in Lösung schnell zersetzten, war eine Charakterisierung nicht möglich.

Darstellung der 3,3'-Dihydro-3'-thioethoxy-phycocyanobilindimethylester 22a+b

38.2 mg ($\hat{=}$ 0.06 mmol) PCBE (4) wurde in 1 ml Ethanthiol (z.S., Merck) gelöst, mit etwas p-TsOH versetzt und 5 h bei RT unter Argon gerührt. Die Reaktionsmischung wurde in 30 ml H_2O gegossen und 1x mit 20 ml und 2x mit je 10 ml CHCl_3 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden noch 2x mit je 30 ml H_2O gewaschen und im Vakuum bei RT eingedampft. Die Restspuren Ethanthiol wurden durch 24stündiges Trocknen im Vakuum entfernt. Bei der Säulenchromatographie des Produktgemisches - bestehend aus 4 Substanzen - über 3 hintereinander geschaltete Fertigsäulen (Größen A, B, C / Druck ca. 5 bar) mit dem Laufmittel To/EtOH/EE = 100:1:1 wurden 8.8 mg ($\hat{=}$ 20% d. Th.) des Isomeren 22b in 98%iger Reinheit (HPLC-Bedingung: A) isoliert. 6.9 mg ($\hat{=}$ 16% d. Th.) des Isomeren 22a erhielt man in nur 80%iger Reinheit (restliche 20% $\hat{=}$ Isomer 22b) nach nochmaliger Säulenchromatographie über zwei selbstgefüllte Säulen mit dem Laufmittel To/EtOH/EE = 150:1:1. Die beiden anderen Substanzen, das Nebenprodukt 23 (2,3-Didehydro-3,3'-dihydro-3'-thioethoxy phycocyanobilindimethylester) und das Ausgangsmaterial PCBE wurden durch das ^1H -NMR Spektrum der jeweiligen Mischung identifiziert, da sie nicht in reiner Form erhalten werden konnten (23: $\approx$ 45%; PCBE: $\approx$ 30% / Rest: 22a und 22b).

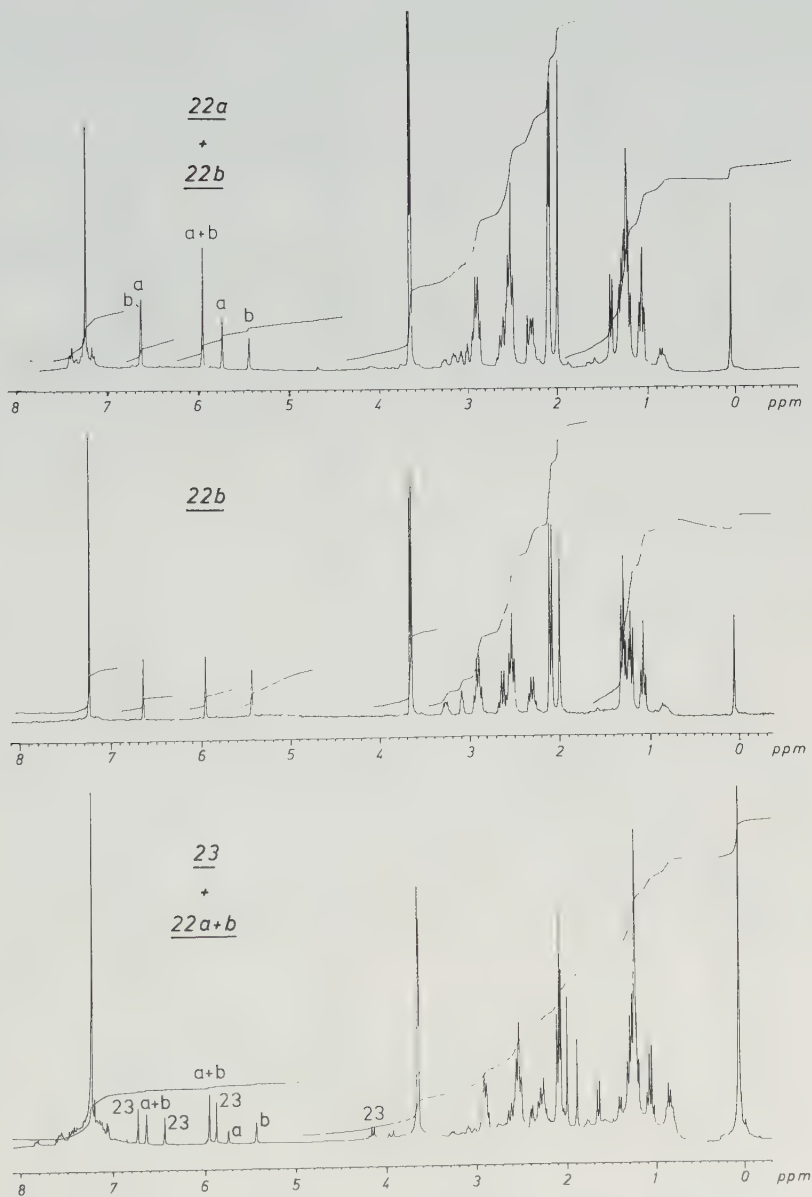


Abb. V.1a: 270 MHz- ^1H -NMR-Spektren von 22a, 22b und 23 in CDCl_3

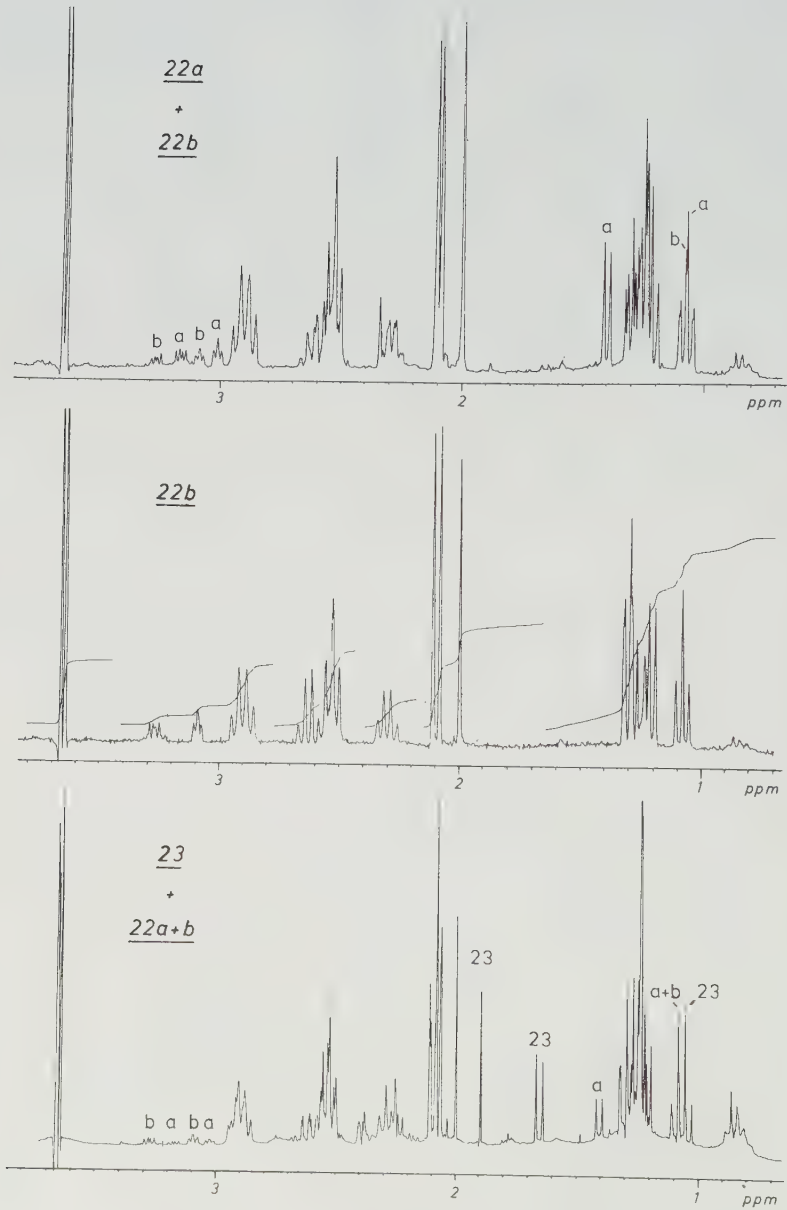


Abb. V.1b: Gespreizter Bereich der Spektren von Abb. V.1a

Isomer 22a

Smp.: 142-144 °C

MS-Spektrum (DCI: Reaktantgas NH₃):

m/e (%) : 677 (b) (M+1)⁺ / 615 (36)

¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃/ 270 MHz):

δ = 1.07 t (CH₃-18')/ 1.24 t (SCH₂CH₃)/ 1.25 d (CH₃-3')/ 1.40 d (CH₃-2, ³J_{H-2,H-2'} = 6.75 Hz)/ 2.00 s (CH₃-7)/ 2.09 s (CH₃-13)/ 2.10 s (CH₃-17)/ 2.29 q (H-18)/ 2.53 t (2 α-CH₂ + H-2)/ 2.59 q (SCH₂CH₃)/ 2.91 m (2 β-CH₂)/ 3.01 (H-3, ³J_{H-3,H-3'} = 3.8 Hz; ³J_{H-3,H-2} = 4.9 Hz)/ 3.17 m (H-3', ³J_{H-3',H-3''} = 7.16 Hz)/ { 3.66 s/ 3.67 s } (2 COOCH₃)/ 5.74 s (H-5)/ 5.96 s (H-15)/ 6.64 s (H-10) ppm

Isomer 22b

Smp.: 139-140 °C

¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃/ 270 MHz):

δ = 1.08 t (CH₃-18')/ 1.21 d (CH₃-3')/ 1.29 t (SCH₂CH₃)/ 1.30 d (CH₃-2, ³J_{H-2,H-2'} = 7.5 Hz)/ 2.00 s (CH₃-7)/ 2.08 s (CH₃-13)/ 2.11 s (CH₃-17)/ 2.30 q (H-18')/ 2.53 t (2 α-CH₂ + H-2)/ 2.63 q (SCH₂CH₃)/ 2.90 m (2 β-CH₂)/ 3.09 dd (H-3, ³J_{H-3,H-3'} = 3.75 Hz; ³J_{H-3,H-2} = 5.25 Hz) 3.25 m (H-3', ³J_{H-3',H-3''} = 6.75 Hz)/ { 3.65 s/ 3.67 s } (2 COOCH₃)/ 5.44 s (H-5)/ 5.96 s (H-15)/ 6.65 s (H-10) ppm

MS-Spektrum (EI, Verdampfungstemperatur: 230 °C):

m/e (%) : 678 (16)/ 676 (94) M⁺/ 615 (b) M - SCH₂CH₃/ 586 (85)/ 492 (13)/ 313 (80)

IR-Spektrum (CHCl₃):

$\tilde{\nu}$ = 2910 m/ 2850 w/ 1730 s/ 1690 m/ 1630 m/ 1600 m/ 1590 (Schulter)/ 1490 w/ 1450 m cm^{-1}

UV/VIS-Spektrum:

CHCl ₃ (bas. Al ₂ O ₃)	λ_{max} = 346 nm , λ_{max} = 580 nm E(346) : E(580) = 2.20	
MeOH (+ 10 mM TEA)	λ_{max} = 345 nm , λ_{max} = 580 nm ϵ = 26690 ϵ = 13835	$\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
MeOH (+ 10 mM TFA)	λ_{max} = 345 nm , λ_{max} = 640 nm ϵ = 22275 ϵ = 26980	$\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Substanz 23

¹H-NMR-Spektrum (CDCl₃/ 270 MHz):

δ = 1.06 t (CH₃-18')/ 1.29 t (SCH₂CH₃)/ 1.66 d (CH₃-3', ³J_{H-3', H-3'',} = 7.1 Hz)/ 1.89 s (CH₃-2)/ { 2.07 s/ 2.09 s/ 2.10 s } (CH₃-7, CH₃-13, CH₃-17)/ 2.30 q (CH₂-18)/ 2.53 t (2 α -CH₂)/ 2.62 q (SCH₂CH₃)/ 2.90 t (2 β -CH₂)/ { 3.66 s/ 3.67 s } (2 COOCH₃)/ 4.18 q (H-3')/ 5.88 s (H-15)/ 6.44 s (H-5)/ 6.74 s (H-10) ppm

MS-Spektrum (EI, Verdampfungstemperatur: 230 °C):

m/e (%) : 674 (51) M⁺ / 613 (49) M - SCH₂CH₃/ 313 (b)

Darstellung von N-t-BOC-S-Trityl-(L)-cysteinyl-(L)-leucinmethylester (27)

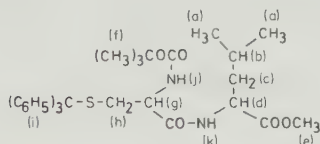
Eine Lösung von 50.7 mg ($\hat{=}$ 0.28 mmol) (L)-Leucinmethylester-Hydrochlorid (26, Sigma), 135.9 mg ($\hat{=}$ 0.29 mmol) N-t-BOC S-Trityl-(L)-cystein (24, Sigma) und 98.6 mg ($\hat{=}$ 0.48 mmol) DCC in 10 ml CHCl₃ wurde 24 Stunden bei RT unter Argon gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung in 20 ml Wasser gegossen und 3x mit je 10 ml CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 3x mit je 20 ml verd.

Essigsäure und 1x mit 20 ml Wasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Nach säulenchromatographischer Reinigung (d = 3 cm, h = 66 cm/ Laufmittel: To/ EtOH/EE = 100:1:1) erhielt man 49.2 mg ($\hat{=}$ 30% d. Th.) des gewünschten Produktes. Das Produkt war laut DC (Bedingung D, RF = 0.47) einheitlich.

Smp.: 163-164 °C

^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 / 270 MHz):

δ = 0.89 d (6H, H-a)/ 1.41 s (9H, H-f)/ 1.48-1.67 m (3H, H-b H-c)/ {2.50 dd/ 2.76 dd} (je 1H, H-h; $^2J_{\text{H-h,H-h}} = 13 \text{ Hz}$; $^3J_{\text{H-h,H-g}} = 7 \text{ Hz}$) / 3.67 s (3H, H-e)/ 3.82 m (1H, H-g)/ 4.55 ddd (1H, H-d; $^3J_{\text{H-d,H-c}} = 5 \text{ Hz}$ bzw. 9 Hz; $^3J_{\text{H-d,H-k}} = 8 \text{ Hz}$) / 4.76 d (1H, H-j; $^3J_{\text{H-g,H-j}} = 8 \text{ Hz}$) / 6.42 d (1H, H-k) / 7.17 - 7.45 m (15H, H-i) ppm



27

IR-Spektrum (CHCl_3):

$\tilde{\nu}$ = 3680 vw/ 3410 m/ 3060 - 3000 vw/ 2950, 2930 m/ 1740 s/ 1720 - 1685 s/ 1595 m/ 1482 s/ 1435 m/ 1320 m / 1160 s cm^{-1}

MS-Spektrum (EI, Verdampfungstemperatur: 160 °C):

m/e (%) : 590 (0.2) M^+ / 534 (0.2) $\text{M}-\text{C}_4\text{H}_8$ / 347 (0.3) $\text{M}-\text{Ph}_3\text{C}$ / 291 (0.8) $\text{M}-\text{Ph}_3\text{C}-\text{C}_4\text{H}_8$ / 243 (b) Ph_3C / 165 (15)

Darstellung von N-t-BOC-S-Trityl-(L)-cysteinmethylester (29)

Eine Lösung von 400.6 mg ($\hat{=}$ 0.86 mmol) N-t-BOC-S-Trityl-(L)-cystein (24, Sigma) in 5 ml MeOH + 5% konz. H_2SO_4 wurde 3 h bei RT gerührt. Die Reaktionsmischung wurde in 25 ml H_2O gegossen und 3x mit je 15 ml CHCl_3 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden noch 3x mit je 25 ml H_2O gewaschen und im Vakuum bei RT eingedampft. Das Produktgemisch wurde auf Kieselgel aufgezogen und über eine Säule mit dem Laufmittel To/EtOH/EE = 150:1:1 getrennt. Es wurden 121.2 mg ($\hat{=}$ 29% d. Th.) des gewünschten Produktes und 128.3 mg ($\hat{=}$ 39% d. Th.) S-Trityl-(L)-cysteinmethylester (30) isoliert. Die beiden Substanzen waren nach DC (Bedingung D, RF(29) = 0.54, RF(30) = 0.21) einheitlich.

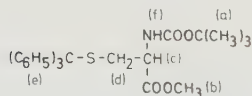
Substanz 29:

MS-Spektrum (Verdampfungstemperatur: 160 °C):

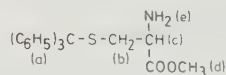
m/e (%) : 477 M^+ / 243 (b) Ph_3C^+ / 165 (25)

^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 / 270 MHz):

δ = 1.45 s (9H, H-a)/ 2.62 d (2H, H-d)/ 3.70 s (3H, H-b)/ 4.31 m (1H, H-c)/ 5.05 d (1H, H-f)/ 7.16 - 7.35 m (15H, H-e) ppm



29



30

Substanz 30:

^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 / 270 MHz) :

δ = 1.59 breit (2H, H-e)/ 2.46 - 2.65 m (2H, H-b)/ 3.24 breit (1H, H-c)/ 3.66 s (3H, H-d)/ 7.17 - 7.46 m (15H, H-a) ppm

MS-Spektrum (Verdampfungstemperatur: 150 °C):

m/e (%) : 377 M^+ / 243 (b) Ph_3C^+ / 165 (48)

Zu Kapitel III.2.1

Analytische Belichtungen von PCBE

Allgemeine Bedingungen:

Das jeweilige Lösungsmittel wurde (Toluol z.A. immer unmittelbar vor der Verwendung über bas. Al_2O_3 chromatographiert, wenn nicht anders angegeben) 30 min im Ultraschallbad entgast und 30 min mit Argon (99.996%, mit Oxisorb-Filter $\hat{=}$ sauerstoffarme Lösung $\hat{=}$ Belichtungsbedingung A) oder 30 min mit Sauerstoff ($\hat{=}$ sauerstoffgesättigte Lösung $\hat{=}$ Belichtungsbedingung B) gespült (Gase und Filter von Messer-Griesheim). Nach Zugabe der entsprechenden Menge PCBE (die Konzentration wurde durch Messung der Absorption eingestellt) wurde die Lösung nochmals 10 min mit Argon oder Sauerstoff gespült. Der Reaktionsverlauf wurde durch Aufnahme von UV-VIS-Differenzspektren (Probe - Referenz) in festen Zeitabständen (10, 30, 60, 90 und 120 min) beobachtet. Dafür wurden zwei mit der Lösung gefüllte 1 cm-UV-Küvetten (bei konzentrierteren Lösungen mit $A > 0.5$ wurden 1 mm-UV-Küvetten benutzt) mit dem PE 320 UV-Spektrometer gegeneinander abgeglichen, bevor mit der Belichtung begonnen wurde. Während die Proben-Küvette belichtet wurde, wurde die Referenzküvette im Dunkeln bei RT aufbewahrt. Die Probenküvette wurde in der in Abb. V.2 dargestellten Belichtungsapparatur bei 18 °C belichtet. Nach Abschluß der Belichtung wurden die beiden Lösungen getrennt eingedampft und aufbewahrt. Die Vorbereitung und weitere Handhabung erfolgte unter Grünlicht ($\lambda \approx 500 \text{ nm}$), da dort die Substanzen kaum absorbieren.

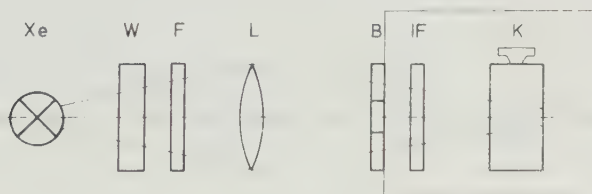


Abb. V.2: Belichtungsapparatur mit: Xe = Xenon-Lampe (XBO 450 W), W = Wasserfilter, F = ständige Filter (KG 3, WG 320), L = Sammellinse, B = Verschlussblende, IF = Interferenzfilter, K = Küvette

Interferenzfilter für die Belichtungen:

Typ	Nr.	$\lambda_{\max}$	$T_{\max}$	HW
UV-IL	010610	360.5 nm	32.0%	8.5 nm
IL	11288.46	532.5 nm	40.9%	12.4 nm
DIL	411722	545.0 nm	22.0%	12.0 nm
IL	12699.23	577.0 nm	38.15%	12.0 nm
IL	12922.11	597.0 nm	41.0%	13.0 nm
PIL	71213.4	625.8 nm	50.0%	11.5 nm
IL	73933.2	643.2 nm	54.9%	10.6 nm

Alle verwendeten Filter waren von Schott, Zwiesel.

Belichtung von PCBE in sauerstofffreier Lösung (entgaste Probe)

Toluol z.A. wurde zunächst über bas. Al_2O_3 chromatographiert und dann wie oben beschrieben behandelt. Die mit Argon gespülte Lösung von PCBE in Toluol wurde auf zwei evakuierbare Küvetten verteilt und diese nacheinander unter den gleichen Bedingungen entgast. Die Probe wurde mit flüssigem Stickstoff eingefroren, es wurde abgepumpt ($\approx 10^{-4}$ mbar), und dann ließ man die Probe auftauen. Dieser Vorgang wurde so oft wiederholt, bis beim Auftauen kein Druckanstieg mehr zu beobachten war (ca. 4-5 mal). Die Proben-Küvette wurde dann 6.5 Stunden bei $\lambda^{\text{exc}} = 577$ nm belichtet.

Kinetikuntersuchungen mit Hilfe der HPLC

1) Produktbildung, Abhängigkeit von der $^1\text{O}_2$ -Konzentration

Die unter den entsprechenden Bedingungen (mit Argon gespült $\hat{=}$ sauerstoffarme Lösung (a), mit Sauerstoff gespült (b) und mit Sauerstoff gespült und mit an Polystyrol gebundem Bengalrosa B (Fluka, ≈ 0.3 mmol/g Harz) versetzt (c)) belichteten Lösungen (3 ml, $(1-2) \cdot 10^{-5}$ M in Toluol, $\lambda^{\text{exc}} = 577$ nm) wurden nach Abfiltrieren des Bengalrosa eingedampft und die Rückstände mit je 100 μl CHCl_3 aufgenommen. Davon wurden jeweils 12 μl in die HPLC (Bed. C) eingespritzt. Die Detektion erfolgte jeweils über einen Zeitraum von ca. 100 min, da die letzten Substanzen bei einer Laufzeit von ca. 90 min registriert wurden.

Das Ergebnis, daß die beiden Produkte 35 und 36 unter den Belichtungsbedingungen b und c nicht mehr beobachtet wurden, wurde auch durch die DC-Untersuchung (Bed. D) bestätigt.

3 ml einer sauerstoffarmen PCBE-Lösung ($2.4 \cdot 10^{-5}$ M in Toluol) wurden 2 h belichtet ($\lambda^{\text{exc}} = 533$ nm), weitere 3 ml der Lösung wurden mit ca. 2 mg an Polystyrol gebundenem Bengalrosa B versetzt und (bei $\lambda^{\text{exc}} = 533$ nm) 1 h belichtet. Die Proben wurden nach Abfiltrieren des Bengalrosa eingedampft und die Rückstände mit 100 μl CHCl_3 aufgenommen. Davon wurden jeweils 12 μl in die HPLC (Bed. C) eingespritzt und wie bereits beschrieben detektiert. Die in Anwesenheit des Sensibilisators belichtete Lösung wies das gleiche Produktverhältnis von 33 zu 34 auf wie die andere Lösung, wobei jedoch die gebildete Menge beider Substanzen wesentlich größer war (trotz kürzerer Belichtungszeit) als ohne Sensibilisator.

2) Produktbildung parallel oder nacheinander

Es wurden $(1.2-1.5) \cdot 10^{-5}$ molare Lösungen von PCBE in Toluol wie oben beschrieben hergestellt und 10 min mit Argon gespült. Jeweils 3 ml wurden zwischen 5 und 360 min lang belichtet ($\lambda^{\text{exc}} = 577$ nm) und eingedampft. Die jeweiligen Rückstände wurden in 100 μl CHCl_3 gelöst und davon wurden 12 μl in die HPLC (Bed. C) eingespritzt. Bei den kürzer belichteten Lösungen ($t_{\text{bel}} \leq 60$ min) wurde der Rückstand mit nur 25 μl aufgenommen und davon wurden 10 μl eingespritzt. Mit den Referenzlösungen wurde genauso verfahren. Die Detektion erfolgte bis ca. 100 min.

Messung der Strahlungsleistung bei den verschiedenen Wellenlängen

Zur Messung der Strahlungsleistung (Strahlungsfluß) **P** wurde in die Belichtungsapparatur (Abb. V.2) anstelle der Küvette ein Silberspiegel S (Reflektionsvermögen $\geq 99\%$ im Bereich von 350 nm bis 800 nm)¹¹⁶ im 45° -Winkel angebracht, so daß das einfallende Licht senkrecht nach oben reflektiert wurde (vgl. Abb. V.3).

Der Graufilter **GF₁** besaß eine Transmission von 0.99% bei allen Wellenlängen (700-400 nm). Die Transmission der variablen Graufilter **GF₂** ($T \approx 2.80\%$) wurden ebenfalls für alle Wellenlängen bestimmt (vgl. Abb. V.4). Detektiert wurde mit dem Radiometer/Photometersystem Modell 550-2 von EG&G Electro-Optics-Division mit dem dazugehörigen Flat-Filter und der Sammellinse. Mit dieser Kombination wurde der Strahlungsfluß in der Einheit $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ gemessen, wobei die Fläche der Diode genau 1 cm^2 entsprach. Die Meßwerte sind in Abb. V.4 graphisch dargestellt.

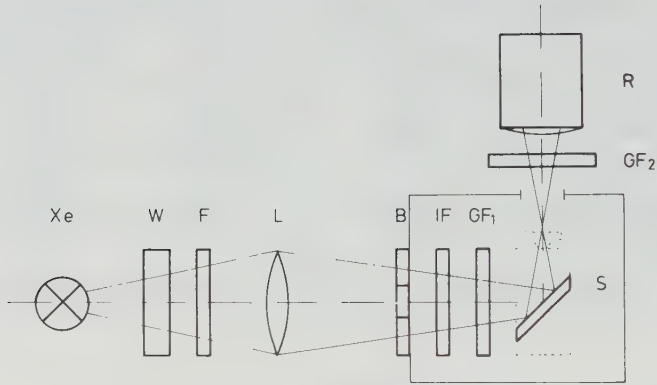


Abb. V.3: Aufbau zur Messung der Strahlungsleistung P , (Xe, W, F, L, B, IF siehe Abb. V.2) GF_1 = ständiger Graufilter, GF_2 = variabler Graufilter, R = Radiometer-System, S = Spiegel

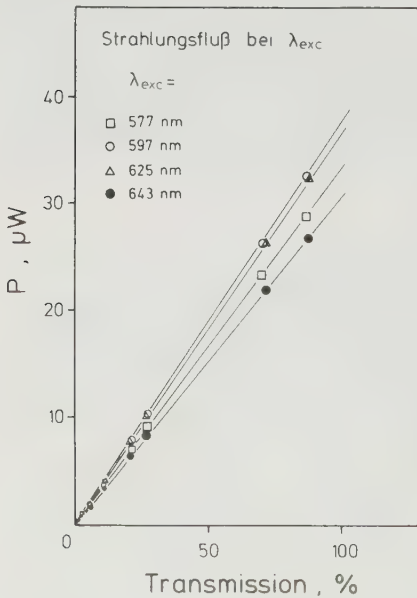


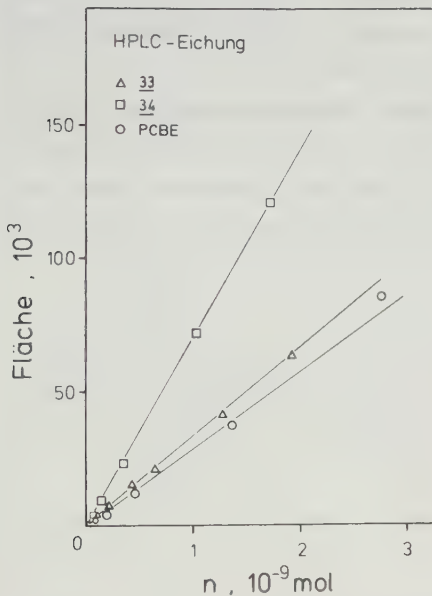
Abb. V.4:
Messung des Strahlungsflusses P bei λ^{exc} in Abhängigkeit von GF_2

Der auf 100% Transmission (von GF_2) extrapolierte Wert (Spalte 2) gibt nach Korrektur für den ständigen Graufilter GF_1 die auf die Probe treffende Strahlungsleistung (Spalte 3) der jeweiligen Wellenlänge an:

Wellenlänge		100%-Wert	P (auf Probe)
577.0	nm	32.97 μ W	3.33 mW
597.0	nm	37.14 μ W	3.75 mW
625.8	nm	36.74 μ W	3.71 mW
643.2	nm	30.36 μ W	3.07 mW

Eichung der HPLC

Es wurden Lösungen definierter Konzentration in CHCl_3 hergestellt (PCBE: $1.85 \cdot 10^{-4}$ M, 33: $2.14 \cdot 10^{-4}$ M und 34: $3.43 \cdot 10^{-5}$ M). Von jeder Lösung wurden mindestens 5 verschiedene Mengen in die HPLC eingespritzt und alle unter den gleichen Bedingungen (Bed. C) gemessen. Aus den in Abb. V.5 dargestellten Geraden (Integration gegen Substanzmenge) wurde die Steigung ermittelt:



s_{PCBE}	$\circ$: 31069 F/nmol
s_{33}	Δ : 32596 F/nmol
s_{34}	$\square$: 70681 F/nmol

Abb. V.5:

Integration (willkürliche Flächeneinheit F) der HPLC in Abhängigkeit der eingespritzten Menge n

Zur Bestimmung der molaren dekadischen Absorptionskoeffizienten ϵ von PCBE wurde wie bei allen anderen ϵ -Bestimmungen eine Eichgerade durch Absorptions-Messungen von ca. 4-5 unterschiedlich konzentrierten Lösungen (durch entsprechende Einwaagen) erstellt, deren Steigung ϵ lieferte.

In Toluol z.A. über bas. Al_2O_3 chrom.:

λ_{max} = 368	λ_{max} = 600	nm
ϵ = 43000	ϵ = 16600	$\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Präparative Belichtung von Phycocyanobilindimethylester

Für die Ansätze wurden jeweils ca. 15-20 mg PCBE in 100 ml Toluol z.A., das über bas. Al_2O_3 chromatographiert, 30 min im Ultraschallbad entgast und 30 min mit Argon (99.996%, mit Oxisorb-Filter) gespült wurde, gelöst und die Lösung nochmals 10 min mit Argon gespült. Dann wurde die sauerstoffarme Lösung (vgl. S. 140) in einer Belichtungsapparatur mit einer Quecksilber-Tauchlampe (125 W) und einem Lampenschacht aus rotem Glas (durchlässig nur für Licht der Wellenlängen ≥ 590 nm) bei 18 °C belichtet. Nach ca. 17 Stunden wurde die Belichtung beendet und die Lösung eingedampft. Die Reaktionsmischungen von 5-6 Ansätzen ($\hat{=}$ 120 mg eingesetztes PCBE) wurden vereint und über 3 hintereinander geschaltete Säulen (1x Größe B, 2x Größe C) mit dem Laufmittel To/EtOH/EE = 100:1:1, der Durchflußgeschwindigkeit von 6-7 ml/min und einem Druck von ca. 3 bar getrennt. Die mit ca. 70-80%iger Reinheit erhaltenen Produkte wurden jeweils noch 1-2 mal mit Hilfe der Säulenchromatographie unter den oben genannten Bedingungen gereinigt bis zu einer Reinheit von $\geq 97\%$ (HPLC-Bed. C). Man erhielt dabei die folgenden Produkte:

Produkt	Menge mg	Ausbeute %d.Th.	RF-Wert DC/Bed. D
PCBE(E-,Z-Gemisch)	8.0	6.7	0.26
<u>33</u> (rot)	10.1	10.9*	0.21
<u>34</u> (violett)	5.4	4.8*	0.20
<u>35</u> (violett)	1.6	1.4*	0.22
<u>36</u> (violett)	1.9	1.7*	0.18

* bezogen auf umgesetzte Menge PCBE

33: (2-Ethyl-3,7,13-trimethyl-8,12-bis-(carbomethoxyethyl)-14-formyl-tripyrin-1(15H)-on)

34 - 36: 4,4-Moloxid des Bis-5,5-phycocyanobilyl

Schmelzpunkte:

33 : 168-169 °C

34 : Zers. > 150 °C

35 : Zers. > 150 °C

36 : Zers. > 150 °C

IR-Spektren (CHCl₃):

33: $\tilde{\nu}$ = 3380 w/ 2960 m/ 2932 m/ 2860 w/ 1732 s (Ester C=O)/ 1710 vs (Aldehyd C=O)/ 1645 s (Lactam C=O)/ 1600 m/ 1460 m/ 1440 m/ 1392 m/ 1360 m/ 1170 m/ 1090 m cm^{-1}

34: $\tilde{\nu}$ = 3340 w/ 2960 m/ 2935 m/ 2860 w/ 1730 s/ 1705 m/ 1665 m/ 1632 w/ 1602 m/ 1458 w/ 1440 m/ 1397 w/ 1170 m/ 1095 m cm^{-1}

35: $\tilde{\nu}$ = 3340 w/ 2960 m/ 2935 s/ 2862 m/ 1732 s/ 1705 m/ 1667 m/ 1633 w/ 1602 m/ 1458 m/ 1439 m/ 1397 w/ 1265 m/ 1170 m/ 1095 m cm^{-1}

36: $\tilde{\nu}$ = 3330 w/ 2960 m/ 2935 s/ 2862 m/ 1730 s/ 1708 m/ 1667 m/ 1635 w/ 1604 m/ 1458 m/ 1439 m/ 1396 w/ 1278 m/ 1265 m/ 1170 m/ 1095 m cm^{-1}

¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Spektren:

Daten siehe Tabelle III.3 und Abbildungen in Kap. III.2.1.2

Massenspektren:

Abbildungen siehe Kap. III.2.1.2

UV-VIS-Spektren (vgl. auch Abb. III.12):

In CHCl_3 z.A. über bas. Al_2O_3 chrom.:

33:	λ_{max}	=	323	508	540	nm
	ϵ	=	28100	17500	17000	$\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

34:	λ_{max}	=	327	570	nm
	ϵ	=	55400	49500	$\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

in Toluol z.A. über bas. Al_2O_3 chrom.:

35:	λ_{max}	=	329	578	nm
	ϵ	=	42300	37300	$\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

36:	λ_{max}	=	329	569	nm
	ϵ	=	40200	34800	$\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Zu Kapitel III.2.2

Analytische Belichtung von (3'R)-3,3'-Dihydro-3'-methoxy-phycocyanobilindimethylester (19a)

Analog zu den Belichtungen von PCBE wurden sauerstoffgespülte Lösungen von MePCBE sowohl in Toluol ($2.0 \cdot 10^{-5}$ M) als auch in Toluol- d_8 ($1.4 \cdot 10^{-5}$ M), beide Lösungsmittel vorher über bas. Al_2O_3 chromatographiert, mit Licht der Wellenlänge $\lambda^{\text{exc}} = 526.2$ nm belichtet. Es wurde wieder die prozentuelle Abnahme der optischen Dichte bei $\lambda = 605$ nm in Abhängigkeit von der Belichtungszeit ausgewertet.

Zu Kapitel III.3.1

Fluoreszenz-Spektroskopie

Als Lösungsmittel wurden MeOH (z.A.-Qualität) mit TFA (z.S., Merck) oder mit frisch destilliertem TEA verwendet. Für die Messung in Toluol wurde die z.A.-Qualität (Merck) über bas. Al_2O_3 chromatographiert. Das jeweilige Lösungsmittel wurde 30 min im Ultraschallbad entgast und 30 min mit Argon gespült. Nach Zugabe der entsprechenden Substanzmengen zur Einstellung der gewünschten Absorptionen wurde die Lösung nochmal 10 min mit Argon gespült. Bei Absorptionen ≥ 0.1 (im Maximum der roten Bande) wurden die Lösungen in 1 mm-Küvetten, die im 45° -Winkel in die Probenhalterung gesetzt waren, oder in Dreiecksküvetten gemessen.

Zur Bestimmung der Fluoreszenz-Quantenausbeuten wurden solche Konzentrationen hergestellt, daß die Absorptionen bei der Anregungswellenlänge < 0.1 waren. Die Referenzlösungen (Cresylviolett, von Lambda-Physik, in MeOH) wurden dann auf dieselbe Absorption bei λ^{exc} eingestellt und unter identischen Bedingungen gemessen.

Es wurde unter schwachem Grünlicht ($\lambda \approx 500 \text{ nm}$) gearbeitet.

Zu Kapitel III.3.2

Optoakustik-Spektroskopie

Zur Herstellung der Stammlösungen (10-25 ml) wurde das Lösungsmittel 30 min im Ultraschallbad entgast und 30 min mit Argon (oder Sauerstoff) gespült. Nach Zugabe der jeweiligen Substanz wurde nochmal 10 min mit Argon (bzw. Sauerstoff) gespült. Diese wurden zur Herstellung der Meßlösungen ($\approx 2 \text{ ml}$) entsprechend der gewünschten Absorption bei der Anregungswellenlänge verdünnt. Vor und nach der Messung wurden die Proben mit einem Photospektrometer kontrolliert, wobei jedoch keine Änderung beobachtet wurde. Die Referenzlösungen wurden analog hergestellt, wobei CuCl_2 bzw. CoCl_2 in luft gesättigtem Lösungsmittel gelöst wurde. Es wurde unter schwachem Grünlicht ($\lambda \approx 500 \text{ nm}$) gearbeitet.

Apparatur (vgl. auch Lit. 21):

Zur Anregung wurde ein Farbstoff-Laser (System 2000, J.K. Lasers, Rugby, U.K.) benutzt, der mit der 2. harmonischen (532 nm) eines Nd-YAG-Lasers (DPLY2) gepumpt wurde. Als Farbstoffe (Radiant Dyes Chemie, Lambda Physik; alle in Methanol gelöst) wurden Rhodamin 6G (560-590 nm), Rhodamin B (590-620 nm), DCM (620-680 nm) und Pyridin 1 (680-750 nm) verwendet. Die verschiedenen Anregungsenergien (1-200 $\mu\text{J}/\text{Puls}$, gemessen mit Hilfe eines Strahlteilers und eines pyroelektrischen Detektors, Rj-7100, Laser Precision Corp.) wurden mit Hilfe eines Graukeils eingestellt. Der Laser-Strahl (15 ns/Puls) wurde langbrennweitig fokussiert, so daß der Strahl in der Küvette (1 cm-UV-Küvette) einen annähernd konstanten Durchmesser besaß. Zur Messung mit variablem τ_a wurden verschiedene Strahldurchmesser durch entsprechende Fokussierung eingestellt. Die in der Küvette erzeugten Druckpulse wurden an der Unterseite des Küvettenbodens mit einem piezoelektrischen Transducer detektiert. Dafür wurde eine hochpolymere Polyvinylidendifluorid (PVF_2)-Folie (9 μm Schichtdicke, mit beidseitig aufgedampften Metallelektroden) verwendet. Die Folie wurde gegen die Unterseite der Küvette gepreßt, wobei zur Verbesserung der akustischen Ankopplung Silikonöl benutzt wurde. Es wurde die in der Folie erzeugte Spannung an den beiden Metallelektroden abgegriffen und einer Impedanzwandlung unterzogen. Die Signale wurden verstärkt (Comlinear CLC 103 A, DC bis 150 MHz, Verstärkung 20 dB) und mit einem Transientenrekorder weiterverarbeitet (Biomation 8100). Die Messung und Auswertung war computer-unterstützt (PDP 11/04, VAX 11/780). Es wurden jeweils Mittelwerte von 10 bis 100 Meßsignalen bestimmt.

Zu Kapitel III.3.3

Blitzlicht-Photolyse

Es wurden die folgenden Lösungen in Benzol (Uvasol, Merck) vorbereitet:

- a) PCBE (50 μM)
- b) Anthracen (320 μM , umkristallisiert aus Ethanol, Reinheit nach GC > 99,6%)
- c) Anthracen (320 μM) und PCBE (50 μM)

Die Lösungen wurden in evakuierbaren 1 cm-Fluoreszenz-Küvetten jeweils in 4 Zyklen

(Einfrieren, Abpumpen, Auftauen) entgast. Diese wurden mit einem 10 ns-Laser-Puls (Excimer-Laser, Lambda Physik) der Wellenlänge $\lambda^{\text{exc}} = 308 \text{ nm}$ angeregt. Nur bei Lösung a wurde die gesamte Energie des Lasers (60 mJ pro Puls) benutzt, bei den anderen Lösungen wurde so stark abgeschwächt, daß die Energie $E_0 \ll 60 \text{ mJ/Puls}$ war, wobei diese Bedingungen bei allen Messungen beibehalten wurden. Die Absorptionsänderung wurde senkrecht zum Anregungsstrahl bei verschiedenen Beobachtungs-Wellenlängen detektiert, die mit Hilfe eines Monochromators (Applied Photophysics Ltd.) eingestellt wurden. Der Detektions-Blitz (Xenon-Lampe, XBO 150 W) wurde durch den jeweils geeigneten Kantenfilter vor der Küvette um das Licht kürzerer Wellenlängen reduziert und mit Hilfe eines Photomultipliers (Hamamatsu R 955) registriert. Das Signal wurde in einen Transienten-Rekorder (Biomation 8100) eingespeist. Die Messung und Auswertung erfolgte mit einem PDP 11/04-Rechner - VAX 11/780 Computer-System (vgl. auch Lit. 117). Es wurde unter schwachem Grünlicht gearbeitet.

Messung der $^1\text{O}_2$ -Lumineszenz

a) Stationäre Messung

Ungefähr 50 ml der jeweiligen luftgesättigten Lösung wurden während der Messung durch eine Fluoreszenz-Durchflußküvette (1 cm Schichtdicke) gepumpt. Diese wurde mit einer Xenon-Lampe (XBO, 450 W) mit vorgeschaltetem Wasserfilter, Wärmekantenfilter KG 5 (Schott) und Kantenfilter (GG 475, Schott) belichtet, wobei das Licht durch einen mechanischen Chopper (33 Hz) zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses moduliert wurde (Lock-in-Verstärker). Die Lumineszenz wurde senkrecht zum Anregungslicht in einem Wellenlängenbereich von 1190-1340 nm (Monochromator: Applied Photophysics, f:3/4, IR-Reflexionsgitter mit Blaze-Wellenlänge 1000 nm) mit einer Germanium-Diode (Judson J16 8Sp) detektiert, wobei Licht der Wellenlängen $< 1000 \text{ nm}$ durch einen Silizium-Filter (1 mm, Glen Creston) und zwei Kodak Wratten 87C Gelatin-Filter ausgeblendet wurde. Das Signal der Diode wurde verstärkt (Lock-in-Verstärker, Judson Modell 700) und mit einem Commodore 4016 Rechner verarbeitet (vgl. auch Lit. 107). Alle 10 nm wurde gemessen (jeweils Mittelwert von 10 Meßwerten, jeder einzelne Wert innerhalb von 50 s ermittelt).

Vorbereitung der Lösungen:

Die Konzentrationen wurden durch entsprechende Einwaagen von PCBE hergestellt. Als Lösungsmittel wurden Benzol-d₆ (für die Spektroskopie, Deut.-Grad mind. 99.5%, Merck) und CCl₄ (Uvasol, Merck) + 10 mM TFA (z.S., Merck) verwendet. Zur Herstellung der neutralen Lösung in CCl₄ wurde dieses direkt vor Gebrauch über bas. Al₂O₃ chromatographiert. Für die entgasten Proben wurden von der entsprechenden Lösung ca. 3 ml in eine evakuierbare 1 cm-Fluoreszenz-Küvette gefüllt und mit ca. 4 Zyklen (Einfrieren, Abpumpen, Auftauen) entgast. Für die Blindprobe mit TEA wurde die jeweilige Lösung nach Messung der Lumineszenz mit soviel TEA versetzt, daß eine Konzentration von ca. 0.2 M erreicht wurde. Es wurden vor und nach der Messung UV-VIS-Spektren aufgenommen, dabei konnte aber nur eine geringfügige Bleichung (< 5%) der Probe bei 605 nm beobachtet werden.

b) Zeitaufgelöste Messung

Der Zerfall der Lumineszenz von molekularem Singulett-Sauerstoff bei $\lambda = 1270$ nm wurde mit einer Apparatur, ähnlich der in der Literatur^{72c} beschriebenen, gemessen. Die luftgesättigten Lösungen wurden in einer 1 cm-Fluoreszenz-Küvette mit Laser-Pulsen (Pulsdauer: 15 ns) angeregt. Es wurde das bereits genannte Laser-System (S. 148f) benutzt, wobei mit der 3. harmonischen (354 nm) bzw. der 2. harmonischen (532 nm) des Nd-YAG-Lasers gepumpt wurde. Als Farbstoffe wurden Rhodamin B ($\lambda^{\text{exc}} = 600$ nm) und Rhodamin 6G ($\lambda^{\text{exc}} = 560$ nm) in MeOH sowie Bis-MSB ($\lambda^{\text{exc}} = 420$ nm) in Dioxan benutzt (Lambda Physik, Radiant Dyes Chemie). Der Laserstrahl hatte eine Energie von entweder 4 mJ/Puls ($\lambda^{\text{exc}} = 600$ und 420 nm) oder 20 mJ/Puls ($\lambda^{\text{exc}} = 560$ nm) auf einer Fläche von ca. 1 cm². Detektiert wurde das Abklingen der Lumineszenz nach dem Laser-Puls senkrecht zum Anregungsstrahl mit einer Germanium-Diode (Judson J16 8Sp). Es wurden ein Silizium-Filter (Glen Creston) und zwei Kodak Wratten 87C Gelatin-Filter zwischen Küvette und Detektor gesetzt, um das Licht der Wellenlängen < 1000 nm auszublenden. Das Signal wurde über Verstärker (Verstärkung x800) in einen Transienten-Rekorder (Biomation 8100 oder Biomation 4500) eingespeist. Die Messung und Auswertung war computer-unterstützt (PDP 11/04- oder LSI-11/23 Rechner zusammen mit einem VAX 11/780 Computer-System). Der durch Mittelwertbildung von 50 (in 1,3-DBB) bzw. 256 (in Benzol) gemessenen Einzelsignalen erhaltene Zerfall wurde mit einer monoexponentiell-

len Funktion angepaßt, die die Lebensdauer τ_{Δ} von Singulett-Sauerstoff lieferte.

Als Lösungsmittel wurden Benzol (Uvasol, Merck) und 1,3-Dibrombenzol (GC-Reinheit > 99.9%) benutzt. Es wurde unter schwachem Grünlicht gearbeitet.

Bestimmung der $^1\text{O}_2$ -Löschkonstanten von PCBE

Der Zerfall der Singulett-Sauerstoff-Lumineszenz wurde gemessen (vgl. zeitaufgelöste Messung, für $\lambda^{\text{exc}} = 532 \text{ nm}$ wurde die 2. harmonische des Nd-YAG-Lasers benutzt), wobei nun die Lebensdauer τ_{Δ} durch Zugabe von PCBE verkürzt wurde.

Messung in neutraler Lösung:

Eine Stammlösung von 0.3 mg Tetraphenylporphyrin (Aldrich, gereinigt nach Barnett¹¹⁸) in 10 ml Benzol- d_6 (50 μM), und eine zweite von 0.31 mg PCBE in 5 ml Benzol- d_6 (100 μM) wurden vorbereitet. Die daraus hergestellten Meßlösungen hatten jeweils die gleiche Konzentration an TPP (2 μM) und verschiedene Konzentrationen an PCBE. Die in der Meßküvette befindliche Lösung wurde bei niedriger PCBE-Konzentration nach 1 Laser-Puls, bei höherer Konzentration nach zwei Pulsen gewechselt. Für jede PCBE-Konzentration wurde der Wert aus 3-5 gemessenen Zerfällen gemittelt.

Messung in saurer Lösung:

Für die eine Stammlösung wurden 6.71 mg des Ammoniumsalzes von Hematoporphyrin (Aldrich) in 1 ml TFA (z.S., Merck) gelöst und mit CCl_4 (Uvasol, Merck) auf 10 ml Lösung ($\rightarrow 1 \text{ mM}$) verdünnt, für die andere wurden 7.68 mg PCBE in 0.5 ml TFA gelöst und ebenfalls mit CCl_4 auf 25 ml Lösung ($\rightarrow 500 \mu\text{M}$) verdünnt. Die 25 ml der Verdünnungslösung enthielten 0.5 ml TFA. Die Meßlösungen hatten jeweils die gleiche Konzentration an HP (100 μM) - und somit auch an TFA - und verschiedene Konzentrationen von PCBE. Es wurden je zwei Meßlösungen pro PCBE-Konzentration hergestellt und gemessen. Bei Lösungen mit niedrigen PCBE-Konzentrationen wurde nur ein Einzelsignal (1 Laser-Puls) gemessen, bei Lösungen mit $c_{\text{PCBE}} \geq 2 \cdot c_{\text{HP}}$ wurden die Werte aus bis zu 25 Einzelspektren gemittelt, da die Signale aufgrund des "inneren Filters" durch PCBE immer kleiner wurden. Es wurde unter schwachem Grünlicht gearbeitet.

VI. Literaturverzeichnis

- 1) W. Rüdiger, *Structure and Bonding* (Berlin) **40**, 101 (1980).
- 2) H. Smith, *Phytochrome and Photomorphogenesis*, McGraw-Hill, London 1975.
- 3a) W. L. Butler in : K. Mitrakos, W. Shropshire Jr., *Phytochrome*, Academic Press, London, New York 1972, S. 185.
- b) W.L. Butler, S.B. Hendricks, H.W. Siegelmann, *Photochem. Photobiol.* **3**, 521 (1964).
- 4) H.P. Hershey, R.F. Barker, K.B. Idler, J.L. Lisemore, P.H. Quail, *Nucl. Acids Res.* **13**, 8543 (1985).
- 5) S.E. Braslavsky, *Photobiochem. Photobiophys. Suppl.* (1987), 83.
- 6a) W. Rüdiger, *Fortsch. Chem. Org. Naturst.* **29**, 60 (1971).
- b) W. Rüdiger, P. Ó Carra, *Eur. J. Biochem.* **7**, 509 (1969).
- c) H.P. Kost, W. Rüdiger, D.J. Chapman, *Liebigs Ann. Chem.* 1582 (1975).
- 7) R.E. Kendrick, B. Frankland, *Phytochrome and Plant Growth*, Edwald Arnold (Publishers) Ltd., London, 2. Ausgabe 1983.
- 8a) A.M. Jones, R.D. Vierstra, S.M. Daniels, P.H. Quail, *Plant Physiol.* **75**, 873 (1984).
- b) L.H. Pratt, *Ann. Rev. Plant Physiol.* **33**, 557 (1979).
- c) R.D. Vierstra, M.-M. Cordonnier, L.H. Pratt, P.H. Quail, *Planta* **160**, 521 (1984).
- 9) R.D. Vierstra, P.H. Quail, *Plant Physiol.* **72**, 264 (1983).
- 10) E. Schäfer, *Photochem. Photobiol.* **35**, 905 (1982).
- 11) K.T. Frey, F. E. Mumford, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **45**, 1466 (1971).
- 12) J.C. Lagarias, H. Rappoport, *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 4821 (1980).
- 13) S. Grombein, W. Rüdiger, H. Zimmermann, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **356**, 1709 (1975).
- 14) F. Thümmeler, W. Rüdiger, *Tetrahedron* **39**, 1943 (1983).
- 15a) F. Thümmeler, W. Rüdiger, E. Cmiel, S. Schneider, *Z. Naturforsch. Teil C*, **38**, 359 (1983).
- b) W. Rüdiger, F. Thümmeler, E. Cmiel, S. Schneider, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **80**, 6244 (1983).
- 16) P. Eilfeld, P. Eilfeld, W. Rüdiger, *Photochem. Photobiol.* **44**, 761 (1986).
- 17) P.F. Aramendía, B.P. Ruzsicska, S.E. Braslavsky, K. Schaffner, *Biochem.* **26**, 1418 (1987).
- 18a) H. Scheer, *Angew. Chem.* **93**, 230 (1981).
- b) L. H. Pratt in K. Smith, *Photochemical and Photobiological Reviews*, Vol. 4, Plenum Press, New York 1979, S.59.
- 19a) R.E. Hunt, L.H. Pratt, *Biochem.* **20**, 941 (1981).
- b) R. Pasternak, G. Wagniere, *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 1662 (1979).
- c) P.-S. Song, Q. Chae, J.D. Gardner, *Biochim. Biophys. Acta* **576**, 479 (1979).
- d) A.R. Holzwarth, S. E. Braslavsky, S. Culshaw, K. Schaffner, *Photochem. Photobiol.* **36**, 581 (1982).
- 20a) R.E. Kendrick, J. de Kok, *Sci. Prog. Oxf.* **68**, 475 (1983).
- b) S.E. Braslavsky, *P. Appl. Chem.* **56**, 1153 (1984).

- c) M. Jabben, K. Heihoff, S.E. Braslavsky, K. Schaffner, *Photochem. Photobiol.* **40**, 361 (1984).
- 21) K. Heihoff, S.E. Braslavsky, K. Schaffner, *Biochem.* **26**, 2241 (1987).
- 22) H. Brock, B.P. Ruzsicska, T. Arai, W. Schlamann, A.R. Holzwarth, S.E. Braslavsky, K. Schaffner, *Biochem.* **26**, 1412 (1987).
- 23) M.-M. Cordonnier, H. Greppin, L.H. Pratt, *Biochem.* **24**, 3246 (1985).
- 24) H. Falk, K. Grubmayer, E. Haslinger, T. Schleder, K. Thirring, *Mh. Chem.* **109**, 1451 (1978).
- 25) S.E. Braslavsky, A.R. Holzwarth, H. Lehner, K. Schaffner, *Helv. Chim. Acta* **61**, 2219 (1978).
- 26) H. Lehner, S.E. Braslavsky, K. Schaffner, *Liebigs Ann. Chem.* 1990 (1978).
- 27) A.R. Holzwarth, H. Lehner, S.E. Braslavsky, K. Schaffner, *Liebigs Ann. Chem.* 2002 (1978).
- 28) H. Lehner, S.E. Braslavsky, K. Schaffner, *Angew. Chem.* **17**, 948 (1978).
- 29) H. Lehner, W. Riemer, K. Schaffner, *Liebigs Ann. Chem.* 798 (1979).
- 30) L. Margulies, M. Stockbürger, *J. Am. Chem. Soc.* **101** (1979).
- 31) S.E. Braslavsky, A.R. Holzwarth, E. Langer, H. Lehner, J.I. Matthews, K. Schaffner, *Isr. J. Chem.* **20**, 196 (1980).
- 32) I.-M. Tegmo-Larson, S. E. Braslavsky, S. Culshaw, R.M. Ellul, C. Nicolau, K. Schaffner, *J. Am. Chem. Soc.* **103** 7152 (1981).
- 33) S. E. Braslavsky, H.-J. Herbert, A. R. Holzwarth, K. Schaffner, *J. Chromat.* **205**, 85 (1981).
- 34) S.E. Braslavsky, R.M. Ellul, R.G. Weiss, H. Al-Ekabi, K. Schaffner, *Tetrahedron* **39**, 1909 (1983).
- 35) A.R. Holzwarth, J. Wendler, K. Schaffner, *Isr. J. Chem.* **23**, 223 (1983).
- 36) S.E. Braslavsky, A.R. Holzwarth, K. Schaffner, *Angew. Chem.* **95**, 670 (1983).
- 37) H. Scheer in F.K. Fong, *Molecular Biology, Biochemistry and Biophysics*, Bd. 35, Springer, Berlin 1982, S. 7.
- 38) H. Al-Ekabi, I.-M. Tegmo-Larson, S.E. Braslavsky, A.R. Holzwarth, K. Schaffner, *Photochem. Photobiol.* **44**, 433 (1986).
- 39) H. Falk, N. Müller, S. Wansch, *Monatsh. Chem.* **116**, 1087 (1985).
- 40) S.E. Braslavsky, H. Al-Ekabi, C. Pétier, K. Schaffner, *Photochem. Photobiol.* **41**, 237 (1985).
- 41) V. Wray, A. Gossauer, B. Grüning, G. Reifensahl, H. Zilch, *J. Chem. Soc. Perkin II*, 1558 (1979).
- 42) A. Gossauer, *Tetrahedron* **39**, 1933 (1983).
- 43) R.W. Schoenleber, Y. Kim, H. Rapoport, *J. Am. Chem. Soc.* **106**, 2645 (1984).
- 44) A.F. McDonagh in : D. Dolphin, *The Porphyrins*, Vol. VI Biochem. Part A. Academic Press, New York 1979, a) S. 452, b) S. 453f, c) S. 447, d) S. 454.
- 45) N.J. Doorenbos, M.T. Wu, *Chem. Ind.*, 648 (1965).
- 46) J.M. Wallace, Jr., J.E. Copenhaver, *J. Am. Chem. Soc.* **63**, 699 (1941).
- 47) J.H. Brewster, C.J. Ciotti, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 6214 (1955).
- 48) J.-H. Fuhrhop, A. Salek, J. Subramanian, C. Mengerson, S. Besecke, *Liebigs Ann. Chem.* 1131 (1975).

- 49) M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1979, a) S. 46ff, b) S. 181, 228, 260, c) S. 160, d) S. 153.
- 50a) S. Masume, G.S. Bates, P.E. Georghiou, *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 3686 (1974).
- b) G.M. Whitesides, J.S. Filippo Jr., E.R. Stredonsky, C.P. Casey, *J. Am. Chem. Soc.* **91**, 6542 (1969).
- 51a) M.F. Semmelhack, R.D. Stauffer, *J. Org. Chem.* **40**, 3619 (1975).
- b) M.F. Semmelhack, R.D. Stauffer, A. Yamashita, *J. Org. Chem.* **42**, 3180 (1977).
- 52) W.J. Cole, D.J. Chapman, H.W. Siegelman, *Biochem.* **7**, 2929 (1968).
- 53) B.L. Schram, H.H. Kroes, *Eur. J. Biochem.* **19**, 581 (1971).
- 54) P. Ó Carra, C. Ó hEocha, *Phytochem.* **5**, 993 (1966).
- 55) E. Fu, L. Friedman, H.W. Siegelman, *Biochem. J.* **179**, 1 (1979).
- 56) R.J. Beuhler, R.C. Pierce, L. Friedman, H.W. Siegelman, *J. Biol. Chem.* **251**, 2405 (1976).
- 57) H. Scheer, in H. Smith, *Technics in Photomorphogenesis*, Academic Press, London 1984, S. 227.
- 58) A. Gossauer, R.-P. Hinze, R. Kutschen, *Chem. Ber.* **114**, 132 (1981).
- 59) S. Schoch, G. Klein, U. Linsenmeier, W. Rüdiger, *Liebigs Ann. Chem.* 1976, 549.
- 60) J.C. Lagarias, A.N. Glazer, H. Rapoport, *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 5030 (1979).
- 61a) Y.S. Klausner, M. Bodansky, *Synthesis* 1972, 453 .
- b) J.C. Sheehan, G.P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 1067 (1955).
- 62a) A. Hubbuch, *Kontakte*, 14 (1979).
- b) E.E. Büllesbach, *Kontakte*, 23 (1980).
- 63) W. König, K. Kernebeck, *Liebigs Ann. Chem.* 1979, 227.
- 64a) G.A. Olah, A. Hussain, B.G. Gupta, S.C. Narang, *Angew. Chem.* **93**, 705 (1981).
- b) G.A. Olah, S.C. Narang, B.G.B. Gupta, R. Malhotra, *J. Org. Chem.* **44**, 1247 (1979).
- c) T. Morita, Y. Okamoto, H. Sakurai, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 1978, 874.
- 65) R.S. Lott, V.S. Chauhan, C.H. Stammer, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 1979, 495.
- 66) N.J. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*, Benjamin/Cummings Publishing Company Inc., Menlo Park 1978, S. 591.
- 67) E.J. Land, *Photochem. Photobiol.* **29**, 483 (1979).
- 68) J.-P. Weller, A. Gossauer, *Chem. Ber.* **113**, 1603 (1980).
- 69) H.G.O. Becker, *Einführung in die Photochemie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2. Aufl. 1983, S. 416-433.
- 70a) A.A. Frimer, *Singlet O₂*, CRC Press, 1985, Vol. I, S. 183-186.
- b) $\tau(^1\text{O}_2)$ in Toluol/Toluol-d₈: K.I. Salokhiddinov, I.M. Byteva, *Opt. Spectrosc.* **55**, 282 (1983), engl. Ausgabe.
- c) $\tau(^1\text{O}_2)$ in Methanol-d₄: M.A.J. Rodgers, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 620 (1983).
- 71) $\tau(^1\text{O}_2)$ in Benzol/Benzol-d₆: J.R. Hurst, J.D. McDonald, G.B. Schuster, *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 2065 (1982).
- 72a) K.I. Salokhiddinov, I.M. Byteva, B.M. Dzkagarov, *Opt. Spektrosk.* **47**, 487 (1979).

- b) P.R. Ogilby, C.S. Foote, *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 2069 (1982).
- c) J.R. Hurst, J.D. Mac Donald, G.B. Schuster, *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 2065 (1982).
- d) J.G. Parker, W.D. Stanbro, *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 2067 (1982).
- e) M.A.J. Rodgers, P.T. Snowden, *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 5541 (1982).
- 73) C.S. Foote in H.H. Wasserman, R.W. Murray, Singlet Oxygen, Academic Press, New York 1979, S. 139.
- 74) R. Benn, H. Günther, *Angew. Chem.* **95**, 381 (1983).
- 75a) A. Bax, R. Freeman, G. Morris, *J. Magn. Res.* **42**, 164 (1981).
- b) A. Bax, R. Freeman, *J. Magn. Res.* **44**, 542 (1981).
- 76) A. Gossauer, W. Hirsch, *Liebigs Ann. Chem.* **1974**, 1496.
- 77a) H. Falk, K. Grubmayr, N. Müller, G. Vormayr, *Monatsh. Chem.* **116**, 53 (1985).
- b) C. Pétrier, C. Dupuy, *Org. Magn. Res.* **21**, 221 (1983).
- 78a) C. Krauss, Dissertation, Ludwig-Maximilians Universität, München 1980.
- b) C. Krauss, C. Bubenzer, H. Scheer, *Photochem. Photobiol.* **25**, 311 (1977).
- 79) H.B. Kagan, Organische Stereochemie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1977, S. 37-51.
- 80a) H. Günther, NMR-Spektroskopie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1983, S. 280-284.
- b) G.E. Backers, T. Schaefer, *Chem. Rev.* **71**, 617 (1971)
- 81) J.M. Hollas, Die Symmetrie von Molekülen, W. de Gruyter, Berlin, New York 1975, S.35.
- 82) F.W. Röllgen, *Nachr. Chem. Techn. Lab.* **31**, 174 (1983) (und Zitate darin).
- 83) M. Linscheid, Privatmitteilung.
- 84) H. Kühlewind, U. Boesl, H.J. Neusser, E.W. Schlag, *Nachr. Chem. Techn. Lab.* **32**, 205 (1984) (und Zitate darin).
- 85) J. Grotemeyer, U. Boesl, K. Walter, E.W. Schlag, *Org. Mass Sp.* **21**, 645 (1986).
- 86) L.A. König, J.H.E. Mattauch, A.H. Wapstra, *Nucl. Phys.* **31**, 18 (1962).
- 87) D.H. Williams. I. Fleming, Spektroskopische Methoden zur Strukturaufklärung, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 3. Aufl. 1975, a) S. 171-177, b) S. 169f
- 88) C.S. Foote, R.W. Denny, *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 5162 (1971).
- 89) D.R. Kearns, *Chem. Rev.* **71**, 395 (1971).
- 90) C.S. Foote, *Pure Appl. Chem.* **27**, 635 (1971).
- 91) A.P. Schaap, Z.A. Zaklika, in H.H. Wasserman, R.W. Murray, Singlet Oxygen, Academic Press Inc., New York 1979, S. 173 - 242.
- 92) K. Yamaguchi in A.A. Frimer, Singlet O₂, CRC Press, 1985, Vol. III, S. 119-251.
- 93a) R.W. Denny, A. Nickon, *Org. React.* **20**, 133 (1973).
- b) Y. Araki, D.C. Dobrowolski, T.E. Goyne, D.C. Hanson Z.Q. Jiang, K.J. Lee, C.S. Foote, *J. Am. Chem. Soc.* **106**, 4570 (1984).
- 94a) M.J. Burke, D.C. Pratt, A. Moscovitz, *Biochem.* **11**, 4025 (1972).
- b) G. Wagnière, G. Blauer, *J. Am. Chem. Soc.* **98**, 7806 (1976).
- c) Qu. Chae, P-S. Song, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 4176 (1975).

- 95) H. Falk, G. Kapl, N. Müller, U. Zrunek, *Monatsh. Chem.* **115**, 1443 (1984).
- 96) D. Magde, J.H. Brannon, T.L. Creemers, J. Olmsted III, *J. Phys. Chem.* **83**, 696 (1979).
- 97) A.C. Tam, K.C.N. Patel, *Rev. Mod. Phys.* **53**, 517 (1981).
- 98a) K. Heihoff, Dissertation, Ruhr-Universität Bochum, Max-Planck-Institut für Strahlenchemie, Mülheim/Ruhr, 1986.
- b) K. Heihoff, S.E. Braslavsky, *Chem. Phys. Lett.* **131**, 183 (1986).
- 99) I. Carmichael, G.L. Hug, *J. Phys. Chem. Ref. Data* **15**, 1-250 (1986), Kap. 3.
- 100a) H.L.J. Baeckstroem, K. Sandros, *Acta Chem. Scand.* **12**, 823 (1958).
- b) G. Porter, F. Wilkinson, *Trans. Faraday Soc.* **57**, 1686 (1961).
- 101) R. Bensasson, E.J. Land, *Trans. Faraday Soc.* **67**, 1904 (1971).
- 102) G.N. Lewis, M. Kasha, *J. Am. Chem. Soc.* **66**, 2100 (1944).
- 103a) M. Kasha, A.U. Kahn, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **171**, 5 (1970).
- b) C.S. Foote, F.C. Shook, R.B. Abakerli, *Meth. Enzym.* **105**, 36 (1984).
- 104a) A.U. Kahn, M. Kasha, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 6047 (1979).
- b) A.A. Krasnovskii, Jr., *Photochem. Photobiol.* **36**, 733 (1982).
- 105a) A.A. Krasnovsky, Jr., *Chem. Phys. Lett.* **81**, 443 (1981).
- b) K.I. Salkhiddinov, B.M. Dzhagarov, I.M. Byeteva, G.P. Gurinovich, *Chem. Phys. Lett.* **76**, 85 (1980).
- 106a) B.M. Monroe, *J. Phys. Chem.* **81**, 1861 (1977).
- b) I.B.C. Matheson, J. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 3310 (1972).
- c) R.H. Young, D. Brewer, R. Kayser, R. Martin, D. Feriozi, R.A. Keller, *Can. J. Chem.* **52**, 2889 (1974).
- 107) S. Nonell, Dissertation (in Vorbereitung), Max Planck-Institut für Strahlenchemie, Mülheim/Ruhr.
- 108) P.B. Merkel, D.R. Kearns, *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 7244 (1972).
- 109) H. Falk, K. Grubmayr, G. Kapl, N. Müller, U. Zrunek, *Monatsh. Chem.* **114**, 753 (1983)
- 110) D.A. Lightner, D.C. Crandall, *Tetrahedr. Lett.* **12**, 953 (1973).
- 111) A.F. McDonagh, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **48**, 408 (1972).
- 112) I.B.C. Matheson, M.M. Toledo, *Photochem. Photobiol.* **25**, 243 (1977)
- 113) E. Merck, Anfärbereagenzien für Dünnschicht- und Papier-Chromatographie, E. Merck, Darmstadt 1970.
- 114) A.F. McDonagh, L.A. Palma, *Biochem. J.* **189**, 193 (1980).
- 115) K. Rühlmann, *Synthesis* 1971, 236.
- 116) P.B. Johnson, R.W. Christy, *Phys. Rev. B* **6**, 4370 (1972).
- 117a) B.P. Ruzsicska, S.E. Braslavsky, K. Schaffner, *Photochem. Photobiol.* **41**, 681 (1985).
- b) S.E. Braslavsky, J.I. Matthews, H.-J. Herbert, J. de Kok, C.J.P. Spruit, K. Schaffner, *Photochem. Photobiol.* **31**, 417 (1980).
- 118) G.H. Barnett, M.F. Hudson, K.M. Smith, *J. Chem. Soc. Perkin I*, 1401 (1975).

VII. Abkürzungsverzeichnis

Chemikalien

Ac	Aceton
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
AcOCl	Acetylchlorid
AcOH	Essigsäure
Anth	Anthracen
t-BOC-	t-Butoxycarbonyl-
BRA	Bilirubinsäure-IX α
n-BuLi	n-Butyllithium
BVA	Biliverdinsäure-IX α
BVAn	Biliverdinsäure-IX α -anhydrid
BVE	Biliverdinsäure-IX α -dimethylester
BVE-IX γ	Biliverdinsäure-IX γ -dimethylester
BVE-IX δ	Biliverdinsäure-IX δ -dimethylester
BVME	Biliverdinsäure-IX α -monomethylester
DABCO	1,4-Diazobicyclo-[2.2.2]-octan
1,3-DBB	1,3-Dibrombenzol
DCC	N,N-Dicyclohexylcarbodiimid
DCH	N,N-Dicyclohexylharnstoff
DDQ	2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzochinon
DHBVE	2,3"-Dihydro-biliverdinsäuredimethylester
DIBAH	Diisobutylaluminiumhydrid
DME	Dimethoxyethan
DMSO	Dimethylsulfoxid
EE	Essigester = Ethylacetat
EtOH	Ethanol
n-Hept.	n-Heptan
HP	Hematoporphyrin
MeOH	Methanol
MePCBE	3,3' -Dihydro-3' -methoxy-phycocyanobilindimethylester
PCBA	Phycocyanobilinsäure
PCBE	Phycocyanobilindimethylester
PCBE $\cdot$ H ⁺	PCBE in seiner protonierten Form
PE	Petrolether (Siedebereich: 40-60°C)
TEA	Triethylamin

TEPCBE	3,3' -Dihydro-3' -thioethoxy-phylocyanobilindimethylester
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
To	Toluol
TPP	Tetraphenylporphyrin
Trityl-	Triphenylmethyl-
p-TsCl	p-Toluolsulfonsäurechlorid
p-TsOH	p-Toluolsulfonsäure

Symbole

A	Absorption (bezogen auf 1 cm, wenn nicht anders angegeben)
A_a, A_0	Anfangsabsorption
A_e	Endabsorption
ΔA	Absorptionsdifferenz
d	Tag(e)
E_{Δ}	Energieniveau von 1O_2
E_{exc}	Anregungsenergie
E_{Tr}	Energieniveau eines Transienten
eq	Äquivalent
ϵ	molarer dekadischer Absorptionskoeffizient
Φ	Quantenausbeute
Φ_{bl}	Φ der Photobleichung
Φ_{pr}	Φ der Produktbildung
Φ_F	Φ der Fluoreszenz
Φ_I	Φ der thermisch reversiblen Photoisomerisierung
Φ_T	Φ der Triplett-Bildung
Φ_{ISC}	Φ des Intersystem-Crossings
Φ_{Δ}	Φ der 1O_2 -Bildung
h	Stunde(n)
IC	Internal Conversion
ISC	Intersystem Crossing
k	Geschwindigkeitskonstante
k_{Δ}	k für Bildung von 1O_2
k_q	k für Löschprozeß
k_D^H	k für Löschung durch Lösungsmittel
k_D	k_D für nicht deuteriertes Lösungsmittel

k_D^D	k_D für deuteriertes Lösungsmittel
k_{ISC}	k für Intersystem-Crossing
k_r	k für strahlenden Prozeß
k_{nr}	k für strahlungslosen Prozeß
k_A	k für Löschung von A durch Lösungsmittel
k_{O_2}	k für Löschung durch O_2
k_{PCBE}	k für Löschung durch PCBE
k_{DB}	k für Dioxetan-Bildung
k_Z	k für Bildung von Z
λ^{exc}	Anregungswellenlänge
λ^{em}	Emissionswellenlänge
λ^{det}	Detektionswellenlänge
λ^{obs}	Beobachtungswellenlänge
λ_{max}	Wellenlänge im Maximum
min	Minute(n)
P_r	Phytochrom in der "roten" Form
P_{fr}	Phytochrom in der "dunkelroten" Form
RG	Reaktionsgeschwindigkeit
RG^H	RG im nicht deuterierten Lösungsmittel
RG^D	RG im deuterierten Lösungsmittel
O_2	Grundzustand ($^3\Sigma_g$) von Sauerstoff
1O_2	1. angeregter Singulett-Zustand ($^1\Delta_g$) von Sauerstoff
t_{hel}	Belichtungszeit
τ	Lebensdauer eines angeregten Zustands
τ_a	akustische Transitzeit
τ_δ	τ von 1O_2
τ_{Tr}	τ eines Transienten
τ_z	τ der Zwischenstufe Z
Z	Zwischenstufe bei Photooxidation

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name	Schneider
Vorname	Dagmar
Geburtsdatum	22.11.1957
Geburtsort	Bochum
Eltern	Günther Schneider, Elektriker; Ehefrau Ursula, geb. Adam, Großhandelskaufmann
Konfession	römisch-katholisch
Familienstand	ledig

Ausbildung

1964 - 1967	Katholische Volksschule, Imbuschplatz 10, Bochum
1967 - 1976	Hildegardis-Schule, Städt. Mädchengymnasium, Bochum; Abschluß: Abitur
14. Sept. 1976	Aufnahme des Chemiestudiums an der Ruhr-Universität Bochum
Apr. 78 / Okt. 78	Diplomvorprüfung und Beginn des Hauptstudiums
Okt. 80 / Apr. 81	Diplomhauptprüfung
Jun. 81 - Mrz. 82	Anfertigung der Diplomarbeit unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Dr. G. Snatzke und Herrn Dr. H. Klein am Lehrstuhl für Strukturchemie, Ruhr-Universität Bochum
30. Apr. 1982	Diplom
1. Okt. 1982	Beginn der Doktorarbeit unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. K. Schaffner, Frau Prof. Dr. S. E. Braslavsky am Max-Planck-Institut für Strahlenchemie in Mülheim/Ruhr

